# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

03-139288

(43)Date of publication of application: 13.06.1991

(51)Int.Cl.

C12P 19/18 A23L 1/03 A23L 2/00 A61K 7/00 A61K 31/71 CO7H 15/26 C12P 19/20

(21)Application number : 01-274518

(71)Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB INC

YAMAMOTO ITARU

(22)Date of filing:

20.10.1989

(72)Inventor: YAMAMOTO ITARU

**MUTO TOKUO** MIYAKE TOSHIO

(30)Priority

Priority number: 01127072

Priority date: 19.05.1989

Priority country: JP

# (54) ALPHA-GLYCOSYL-L-ASCORBIC ACID, ITS PRODUCTION AND USE THEREOF (57)Abstract:

PURPOSE: To obtain  $\alpha$ -glucosyl-L-ascorbic acid not showing the direct reducing properties by treating a solution containing L-ascorbic acid and  $\alpha$ -glucosyl saccharide compound with glycosyltransferase.

CONSTITUTION: A solution containing L-ascorbic acid and  $\alpha$ -glucosyl saccharide compound is treated with glycosyltransferase to form  $\alpha$ -glucosyl-L-ascorbic acid not showing the direct reducing properties. Then the enzyme is deactivated by heating the reaction solution, the solution is filtered, concentrated into a syrup state or dried to prepare the powder containing  $\alpha$ -glucosyl-L-ascorbic acid. Cyclomaltodextrin glucanotransferase (EC2.4.1.19),  $\alpha$ 'glucosidase (EC3.2.1.20), etc., are preferable as the glycosyltransferase.

# 19 日本国特許庁(JP)

⑪特許出願公開

## <sup>®</sup> 公 開 特 許 公 報 (A) 平3-139288

⑤Int. Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	43公開	平成3年(1991)6月13日
C 12 P 19/18 A 23 L 1/03 2/00	E	8214-4B 6977-4B		
A 61 K 7/00	D X	6977-4B 9051-4C 9051-4C		
31/71 C 07 H 15/26 C 12 P 19/20	ADK ^	7431-4C 7822-4C 8214-4B		
	′	審査請求	未請求 請	情求項の数 12 (全16頁)

❷発明の名称

⑫発 明

αーグリコシルーLーアスコルビン酸とその製造方法並びに用途

21)特 願 平1-274518

格

願 平1(1989)10月20日 @出

優先権主張

者

20平1(1989)5月19日20日本(JP)30特願 平1-127072

本 格 @発 明 者 武藤 徳 男 ⑫発 明 者 三宅 俊 雄 ②出 願 人

Ш

岡山県岡山市花尻ききよう町1番地の102 岡山県岡山市津島中1丁目3番RB-402号

岡山県岡山市奥田1丁目7番10-403号

株式会社林原生物化学

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

研究所

⑪出 願 人 山本

岡山県岡山市花尻ききよう町1番地の102

# 1. 発明の名称

α - グリコシル - L - アスコルビン 酸とその 製 造方法並びに用途

# 2. 待許請求の範囲

- (1) 直接還元性を示さない α グリコシルーL ア スコルピン酸。
- (2) L アスコルビン酸とα グルコシル糖 化合物 とを含有する溶液に掂転移酵素を作用させ、直 接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコ ルビン酸を生成せしめ、これを採取することを 特徴とする直接還元性を示さないαーグリコシ ルーLーアスコルビン酸の製造方法。
- (3) 糖転移酵素がシクロマルトデキストリン・グ ルカノトランスフェラーゼ(EC 2.4.1.19)また はαーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) であるこ とを特徴とする特許請求の範囲第(2)項記載の 直接選元性を示さないαーグリコシルーLーアス コルビン酸の製造方法。
- (4) 直接還元性を示さない α ~ グリコシルーL ア

スコルビン酸を含有せしめた飲食物。

- (5) 直接還元性を示さない αーグリコシルーLーア スコルビン酸を有効成分として含有せしめた抗 感受性疾患剂。
- (6) 直接還元性を示さない α グリコシルーL ア スコルビン酸を有効成分として含有せしめた化 特品。
- (7) 2-0-α-D-ダルコシル-L-アスコルピン
- (8) L-アスコルビン酸とα-グルコシル糖化合物 とを含有する溶液に糖転移酵素または糖転移酵 素とグルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3) とを作用 させ、2-0-α-D-グルコシル-L-アスコル ピン酸を生成せしめ、これを採取することを特 徴とする2-0-α-D-グルコシル-L-アスコ ルビン酸の製造方法。
- (9) 塘転移酵素がシクロマルトデキストリン・グル カノトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.19) または αーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) であること を特徴とする特許請求の範囲第(8)項記載の2-

O-α-D-グルコシル-L-アスコルピン酸の製造方法。

- (10) 2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン 酸を含有せしめた飲食物。
- (11) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン 酸を有効成分として含有せしめた抗感受性疾患 剤。
- (12) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン 酸を有効成分として含有せしめた化粧品。

#### 3. 発明の詳細な説明

#### [産業上の利用分野]

本発明は、直接還元性を示さない α - グリコシルーLーアスコルビン酸とその製造方法並びに用途に関し、更に詳細には、新規物質である直接還元性を示さない α - グリコシルーLーアスコルビン酸を含有せしめた飲料、加工食品、嗜好物などの飲食物、感受性疾患の予防剤、色角剤すなわち抗感受性疾患剤および美肌剤、色白剤

には、白血球増加による免疫増強作用に関与するなどが知られており、生体の健康維持、増進に重要な役割をなしている。壊血病は、Lーアスコルビン酸の欠乏症として古くから知られ、皮膚の虚弱化、点状出血、斑状出血、歯肉や骨髄下出血などを呈する。これを予防し、健康を維持するために、Lーアスコルビン酸の推奨1日所要量(RDA)が定められ、それによれば我国では、成人男子60mg、成人女子50mgとされている。

しーアスコルビン酸の用途は、単に必須栄養素としてのビタミンC強化剤にとどまらず、その化学構造、生理作用から、例えば、酸味剤、還元剤化学酸化防止剤、濃白剤、安定剤などとして各種化学して各種性疾患、熱食物などに、また、ウイルス性疾動の必要性疾患の予抗感受性疾患剤に、更にはどの動物が関係が表現して、というない。

1-アスコルビン酸の最大の欠点は、それが直接

などの化粧品に関する。

#### 「従来の技術」

1-アスコルビン酸は、 式[1]:

で示される化学構造を有しており、ヒト、サル、 モルモットにとっては、生体内で合成できず、必 須栄養素ビタミンCとなっている。

Lーアスコルビン酸は、生体内で、例えば、生体 結合組織の主成分であるコラーゲンの合成に必要 なプロリンやリジンのヒドロキシル化反応に関与 し、また、例えば、チトクロームCのFe\*\*\*を還元 してFe\*\*にするなどの酸化還元反応に関与し、更

還元性を示すため、極めて不安定で、酸化分解を 受け易く、容易にその生理活性を失うことである。

Lーアスコルビン酸を安定化させる方法として、Lーアスコルビン酸の糖誘導体が提案されている。例えば、先に本発明者等が、「ビタミン」第43巻、第205万至209頁(1971年)、「ビタミン」第47巻、第259万至267頁(1973年)および特公昭48-38158号公報で、生化学的手法によるLーアスコルビン酸グルコシドの合成法を開示している。

しかしながら、これらのアスコルビン酸グルコシドは、いずれも同様の方法で調製され、得られたアスコルビン酸については、例えば、該公報第2、 研第14乃至16行で、「得た誘導体はアスコルビン酸の6番の炭素の第1アルコール基がエーテル結合によりグルコシドを形成したもの」と記載され、また、 その生成がマルトースからαーグルコシル基の糖転移反応であること、更には、直接還元性を示す性質を育するなどから、その化学構造が、 式[11]:

で示されるものであると考えられ、その安定化の程度についても、該公報実施例1の表の結果から明らかなように、Lーアスコルビン酸よりは優れているものの、なお不安定であり、未だ実用化されるに至っていない。

また、石戸等が特公昭58-5920号公報で、有機化学的手法によるLーアスコルピン酸糖誘導体の合成法を開示している。

しかしながら、このアスコルピン散糖誘導体は、 該公報第7額第6行乃至第8間第11行で、2.3-ジー

ン酸糖誘導体の提案は、安定性、安全性、生理活性、経済性などの点で、いずれも不充分であり、 その実現を見るに至っていない。

## [発明が解決しようとする課題]

従来のLーアスコルビン酸糖誘導体の欠点を解消し、安定性に優れ、生体内でLーアスコルビン酸の生理活性を充分発揮し、しかも無名で安心して利用できるLーアスコルビン酸糖誘導体の実現が強く望まれている。

# [課題を解決するための手段]

本発明は、従来のLーアスコルビン酸糖誘導体の欠点を解消するためになされたものであって、とりわけ、生化学的手法による糖転移反応を利用し、新しいLーアスコルビン酸糖誘導体を目指して鋭意研究を続けてきた。

その結果、直接還元性を示さず、安定性に優れ、 しかも生体内で容易に加水分解され、生理活性の 点でも申し分のない新規Lーアスコルピン励療誘導 体を見出し、更に、その製造方法並びに飲食物、 抗感受性疾患剤、化粧品などへの用途を確立して 0 ー (β – D – グルコピラノシル) – L – アスコルピン酸など21種類ものβ – D – グルコピラノシル型のL – アスコルピン酸糖誘導体を掲げて説明していることからも明らかなように、すべてのD – グルコースがβ精合しているL – アスコルピン酸糖誘導体である。

また、政本等が特別昭58-198498号公報で有機化学的手法によるLーアスコルビン酸糖誘導体の合成法を開示しているが、これもβーグルコシル型のLーアスコルビン酸糖誘導体である。

また、これら月 - D - グルコピラノシル型のL - アスコルピン酸糖誘導体について、本発明者が大きにあ、生体、とりわけ、ヒトにおいて、生理活性を充分発揮させることの困難なことかの困難ない。更に、その有機化学的手法による合成は、反応が複雑で収率も低く、それ故に、安全はが劣り、加えて、その誘導体の無姦性、安全を確保する上において、相当の困難が伴う欠点のあることも判明した。

叙上のように、従来知られている1-アスコルビ

本発明を完成した。

また、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸が、Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを経口摂取することにより、生体内で生成され、代謝される物質であることが判明したことにより、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸は、本来、生体物質であり、安全性の上からも理想的なLーアスコルビン酸の新規糖誘導体と言うことができる。

ちなみに、有機化学的手法によって合成される β-D-グルコシル型のL-アスコルビン酸糖誘導体は、生体内で生成されず、従って、生体にとっては異物と考えられる。

本発明のαーグリコシルー6ーアスコルビン酸は その製法を問わず、生化学的手法による製法であっ ても、有機化学的手法による製法であってもよい。

しかし、一般的には、安全性、経済性の上から、 Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物とを 含有する溶液に糖転移酵素を作用させる生化学的 手法により生成させるのが領ましい。 本明細費でいう直接選元性を示さないとは、Lー アスコルビン酸の場合とは違って、そのままで、2,6-ジクロルフェノールインドフェノールを選元脱 色しないことを意味する。

本明細書でいうLーアスコルビン酸とは、特に不都合が生じない限り、遊離のLーアスコルビン酸のみならず、Lーアスコルビン酸のアルカリ金属塩若しくはアルカリ土類金属塩などのLーアスコルビン酸塩、または、それらの混合物を意味する。従って、本発明の搪転移反応に用いるLーアスコルビン酸としては、通常、遊離のLーアスコルビン酸だけでなく、必要に応じて、Lーアスコルビン酸ナトリウム、Lーアスコルビン酸カルシウムなどが適宜用いられる。

また同様に、本明細書でいうαーグリコシルーLーアスコルビン酸、2-0-α-D-グルコシルーLーアスコルビン酸などについても、特に不都合が生じない限り、遊離の酸のみならず、それらの塩をも意味する。

本発明で用いるαーグルコシル糖化合物は、同

時に用いる镀転移酵素によってLーアスコルビンとから直接選元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸を生成できるものであればよく、例えば、マルトース、マルトトリオース、マルトオクタオース、マルトオリゴに、アキカースなどのマルトオリゴに、アキカースなどのマルトオリゴにスなどの酸粉部分のであればできる。

従って、αーグリコシルーLーアスコルビン酸の 生成を容易にするためには、糖転移酵素に好適な αーグルコシル糖化合物が選ばれる。

例えば、糖転移酵素として、αーグルコシダーゼ (EC 3.2.1.20) を用いる際には、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、マルトペキサオース、マルトペブタオース、マルトオクタオースなどのマルトオリゴ糖、または、DE約5乃至60のデキストリン、政粉部分加水分解物などが好適であり、シクロマルト

デキストリン・グルカノトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.19) を用いる際には、シクロデキストリンまたはDE1未満の澱粉 糊化物からDE約80のデキストリンまでの澱粉部分加水分解物などが好適であり、αーアミラーゼ (EC 3.2.1.1) を用いる際には、DE1未満の糊化澱粉からDE約30のデキストリンまでの澱粉部分加水分解物などが好適である。

反応時のLーアスコルビン酸の濃度は、通常、1 V/V X 以上、望ましくは、約2万至30 V/V X 含有しておればよく、αーグルコシル糖化合物の濃度は、Lーアスコルビン酸に対して、通常、約0.5万至30倍の範囲が好適である。

本発明に用いる糖転移酵素は、Lーアスコルピン酸とこの酵素に好適なαーグルコシル糖化合物とを含有する溶液に作用させる時、Lーアスコルピン酸を分解せずに、Lーアスコルピン酸の少なくとも2位の炭素のアルコール基にαーグルコシル基を1乃至数個転移してαーグリコシルーLーアスコルピン酸を生成するものであればよい。

例えば、αーグルコシダーゼは、マウスの腎臓、

ラットの陽粘膜、イヌ、ブタの小腸など動物由来の酵素、コメ種子、トウモロコシ種子など植物由来の酵素、更には、ムコール(Mucor)属、ペニシリウム(Penicillium)属などに属するカビ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)属などに属する辞母などの微生物を栄養培地で培養し得られる培養物由来の酵素が、シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼは、バチルス(Bacillus)属、クレブシーラ(Klebsiella)属などに属する細菌培養物由来の酵素が、αーアミラーゼは、バチルス属などに属する細菌培養物由来の酵素などが適宜番択できる。

これらの搪転移酵素は、前記の条件を満足しさ えすれば、必ずしも精製して使用する必要はなく、 通常は、粗酵素で本発明の目的を達成することが できる。必要ならば、公知の各種方法で精製して 使用してもよい。また、市販の搪転移酵素を利用 することもできる。使用酵素量と反応時間とは、 密接な関係があり、通常は、経済性の点から約3万 至80時間で反応を終了するように酵素量が遊ばれ 3 .

また、固定化された糖転移酵素をパッチ式で繰り返し、または連続式で反応に利用することも有利に実施できる。

本発明の反応方法は、通常、前述のLーアスコル どと放となーグルコシル糖化合物とを含有するる 被に糖転移酵素を加え、該酵素が充分作用する条件、通常、pH約3乃至9、温度約30乃至80℃の応応 から選ばれる条件に維持して行う。また、反反応中にLーアスコルビン酸が酸化分解を受け易いので、 できるだけ嫌気または置元状態で遮光下に維維ので するのが望ましく、必要ならば、チオ尿素、亜硫酸 塊などを共存させて反応させることも有利に実施 できる。

また、必要ならば、塘転移反応能を有する微生物の増殖中に、Lーアスコルビン酸とαーグルコシル館化合物とを共存させて、その目的物質を生成させることも有利に実施できる。

本発明の直接還元性を示さない αーグリコシルー Lーアスコルビン酸について述べると、Lーアスコ

フェラーゼやαーアミラーゼによって生成させる 場合には、一般に、ローグルコシダーゼの場合よ りもα-D-グルコシル基の結合数の大きいものま で混在生成させることができ、使用するαーグル コシル糖化合物によっても変動するが、一般的に は、シクロマルトデキストリン・グルカノトラン スフェラーゼの場合には、αーBーグルコシル基の 数が1乃至7程度まで分布し、αーアミラーゼの場 合には、これよりその分布がやや狭い程度である。 このような混合物である生成物を、必要によって、  $\alpha$  -  $\mathcal{P}$   $\leq$   $\mathcal{P}$  -  $\mathcal{P}$   $\leq$   $\mathcal{P}$   $\leq$   $\mathcal{P}$  -  $\mathcal{P}$   $\leq$   $\mathcal{P}$  -  $\mathcal{P}$ (EC 3.2.1.2) 、グルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3) などによって、部分加水分解し、そのα-D-グル コシル基の数を低減させることができる。例えば、 グルコアミラーゼを作用させる場合には、2-0α-D-マルトシルーL-アスコルビン酸以上の高 分子物を加水分解し、2-0-α-D-グルコシルー 1.一アスコルビン酸を蓄積生成させることができ、 また、βーアミラーゼを作用させる場合には、主

に、2-0- a-D- マルトテトラオシル-L-アス

ルビン酸の少なくとも2位の炭素のアルコール基に α-D-グルコシル基が結合し、その結合数は、1 乃至7個程度のグルコシル基がα-1,4結合してお り、その個々の物質としては、例えば、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトシルーLーアスコルピン酸、2-0-α-D-マルトトリオシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトテトラオシルーL-アスコルピン酸、2-0-α-D-マルトペンタオシル-L-アスコルピン 酸、2-0-α-D-マルトヘキサオシル-L-アス コルビン酸、2-0-α-D-マルトヘブタオシル-Lーアスコルピン酸などである。αーグルコシダー ゼによって生成させる場合には、通常、2-0-α-DーグルコシルーLーアスコルビン酸だけを生成さ せることができるし、必要により、2-0-α-D-グルコシルーLーアスコルヒン酸に、2-0-α-D-マルトシルーLーアスコルピン酸、2-0-α-D-マルトトリオシルーLーアスコルピン酸などを混在 して生成させることもできる。

シクロマルトデキストリン・グルカノトランス

コルビン酸以上の高分子物を加水分解し、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸、2-0-α-D-マルトシルーL-アスコルビン酸および2-0-α-D-マルトトリオシルーL-アスコルビン酸の混合物を蓄積生成させることができる。

以上述べたように、各種方法により生成せしめれた。 を選示性を示さないαーグリコシルーLーアルールピン酸合有溶液は、一般に、αーグリコシルー Lーアスコルピン酸のみならず、未反応のLーアスコルピン酸、αーグルコシル糖化合物などをシースをしているけれども、そのままで、αーグリコシルー Lーアスコルピン酸合有製品にすることがで素をは、近応溶液を加熱するなどして砂素で、このでは、では、濃縮してシラップ状の、更には、ない、濃縮してシラップ状の、更にはない、次には、水のαーグリコシルーLーアスコルピン酸合有製品にする。

更に、精製されたαーグリコシルーLーアスコルビン酸製品を製造する場合には、αーグリコシルーLーアスコルビン酸と夫反応のLーアスコルビン酸、Dーグルコース、αーグルコシル糖化合物など夾雑

物との分子量、親和性などの違いを利用する分離 手段、例えば、膜分離、カラムクロマトグラ フィー、高速液体クロマトグラフィー、ゲル滥過 クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラ フィーなどの方法で分離精製すれば、高純度の製 品を得ることも容易に達成することができる。こ の際、分離されるLーアスコルビン酸、αーグルコ シル糖化合物などを、再度、糖転移反応の原料と して用いることも有利に実施できる。また、糖転 移反応終了後、クロマトグラフィーなどの分離手 段にかけるまでの間に、必要ならば、何えば、反 応被を加熱して生じる不溶物を濾過して除去した り、活性炭などで処理して反応液中の蛋白性物質、 着色物質などを吸着除去したり、陽イオン交換假 脂(H型)で脱ミネラルしたり、陰イオン交換樹脂 (OH型) に吸着させ、アニオン若しくは塩類溶液 などで脱着処理するなどの精製法を組合せて利用 することも随意である。

このようにして得られるαーグリコシルーL-ア スコルビン酸は次の特長を有している。

でき、また、糖類を除去した精製製品の場合には、賦形、増量効果は低いものの、少量で a ーグリコシルーLーアスコルビン酸本来の効果を発揮することができる。

これらの特長から、直接還元性を示さない。αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、安定性、安全性の高い天然型のビタミンC強化剤としてばかりでなく、星味改善剤、酸味剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、嗜好物、また、ウイルス性疾患、細菌性疾患、悪性腫瘍など感受性疾患の予防剤、治療剤、更には、更悪い剤、色白剤などの化粧品などに配合して、更ましくは、0.0011///\*以上配合して有利に利用できる。

また、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、酸味、塩から味、渋味、旨味、苦味などの星味を有する各種物質ともよく調和し、耐酸性、耐熱性も大きいので、普通一般の飲食物、嗜好物、例えば、醬油、粉末醤油、味噌、粉末味噌、もろみ、ひしお、フリカケ、マヨネーズ、ドレッシング、

- (1) 直接還元性を示さず、きわめて安定である。 Lーアスコルビン酸とは違って、メイラード反応 を起こしにくい。従って、アミノ酸、ペプチド、 蛋白質、脂質、糖質、生理活性物質などと共存 しても無用の反応を起さず、むしろ、これら物 質を安定化する。
- (2) 加水分解を受けてLーアスコルビン酸を生成し、Lーアスコルビン酸と同様の還元作用、抗酸化作用を示す。
- (3) 体内の酵素により、L-アスコルビン酸とD-グルコースとに容易に加水分解され、L-アスコ ルビン酸本来の生理活性を示す。
- (4) Lーアスコルビン酸とαーグルコシル糖化合物などとを経口摂取することにより、生体内で生成され、代謝される物質であることから、その安全性は衝めて高い。
- (5) α グルコシル糖化合物などの糖類を含有する製品の場合には、α グリコシルーL アスコルビン酸の効果を発揮するのみならず、糖類が賦形、増量効果や、甘味効果を発揮することが

食酢、三杯酢、粉末すし酢、中華の素、天つゆ、 短つゆ、ソース、ケチャップ、焼肉のタレ、カレー ルウ、シチューの素、スープの素、ダシの素、複 合調味料、みりん、新みりん、テーブルシュガー、 コーヒーシュガーなどの各種調味料、せんべい、 あられ、おこし、カリントウ、求肥、 断類、 まん じゅう、ういろう、あん類、羊羹、水羊羹、錦玉、 ゼリー、カステラ、飴玉などの各種和菓子、パン、 ピスケット、クラッカー、クッキー、パイ、ブリ ン、シュークリーム、ワッフル、スポンジケーキ、 ドーナツ、チョコレート、チューインガム、キャ ラメル、キャンデーなどの各種洋菓子、アイスク リーム、シャーベットなどの氷菓、果実のシロッ プ漬、氷霰などのシロップ類、パタークリーム、 カスタードクリーム、フラワーベースト、ピーナッ ツペースト、フルーツペーストなどのスプレッド、 ペースト類、ジャム、マーマレード、シロップ活、 糖果などの果実、野菜の加工食品類、パン類、麺 類、米飯類、人造肉などの穀類加工食品類、サラ ダオイル、マーガリンなどの油脂食品類、福神資、

べったら潰、千枚潰、らっきょう漬などの漬物類、 たくあん漬の素、白菜漬の素などの漬物の素類、 ハム、ソーセージなどの畜肉製品類、魚肉ハム、 魚肉ソーセージ、カマポコ、チクワ、ハンペンな どの魚肉製品、ウニ、イカの塩辛、酢コンプ、さ きするめ、ふぐのみりん干しなどの各種珍味類、 のり、山菜、するめ、小魚、貝などで製造される つくだ煮類、煮豆、ポテトサラダ、コンプ巻、天 **みらなどのそう菜食品、錦糸卵、乳飲料、パター、** チーズなどの卵、乳製品、魚肉、畜肉、果実、野 菜などのビン詰、缶詰類、合成酒、増醸酒、果実 酒、洋酒などの酒類、コーヒー、ココア、ジュー ス、炭酸飲料、乳酸飲料、乳酸菌飲料などの清涼 飲料水、ブリンミックス、ホットケーキミックス、 即席ジュース、即席コーヒー、即席しるこ、即席 スープなど即席飲食品などに、ビタミンC強化剤、 呈味改善剂、酸味剂、品質改良剂、安定剂、抗酸 化剤などの目的で有利に利用することができる。 また、家畜、家禽、蜜蜂、蚕、魚などの飼育動物 のための飼料、餌料などにビタミンC強化剤、星味

改善剤、抗酸化剤、嗜好性向上などの目的で配合 して利用することも好都合である。

また、本発明でいう感受性疾患とは、αーグリコシルーLーアスコルピン酸によって予防され若しくは治療される疾患であり、それが、例えばウィルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿療、白内障、悪性腫瘍など

投与量は、含量、投与経路、投与頻度などによって適宜調節することができる。通常、成人1日当り、約0.001万至100グラムの範囲が好適である。

また、化粧品の場合も、大体、前述の予防剤、 治療剤に準じて利用することができる。

αーグリコシルーLーアスコルビン酸を含有せしめる方法としては、それらの製品が完成するまでの工程で、例えば、混和、混捏、溶解、浸漬、散布、塗布、噴霧、注入など公知の方法が適宜選ば

れる。

以下、本発明の直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸の代表例を実験を用いて詳細に説明する。

実験 1 αーグルコシダーゼ標品

ラットの小腸を0.1kリン酸塩緩衝液 (pH7.0) に20 W/W%になるように加え、これをホモゲナイザーで均買化し、遠心分離 (4.000×g、10分間) し、この上値にメルク社製トリプシンを終末濃度0.1g/L

になるよう加えて室温下で4時間維持し、次いで冷エタノールを2倍容加え、遠心分離し、この沈殿を0.01Hリン酸塩緩衝液(pH7.0)に溶かして、半透膜に入れ、同級衡液に対して15時間透析した。

その後、常法に従って、DEAEーセルロースカラムクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトカラムクロマトグラフィーにかけ、 αーグルコシダーゼ活性画分を採取し、これを凍結乾燥したものをαーグルコシダーゼ標品とした。

本品は比活性60.6(単位/mg蛋白質)で、精製倍率460倍、活性収率約47%であった。

ここでいう活性1単位とは、1.35mM EDTAを含む
0.1H酢酸塩緩固族(pH6.0)750μLと4V/VXマルトース250μLとの混液に、適当に希釈した酵素液100μ
Lを加え、37℃で30分間反応させた後、沸騰水に3分間保って反応を停止させ、これを遠心分離し、その上清20μLを採り、これに発色試薬(グルコースオキシダーゼ法、和光純薬社製、商品名グルコースBテスト)1mLを加えて、37℃に20分間保って発色させ、次いで505maにおける吸光度を感定

高含有画分を採取し、次いで島津製作所社製造のカラム(商品名Shin-pack ODS)を用いて、0.3V/VX酢酸を溶出液として高速液体クロマトグラフィーを行ない、αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸高含有画分を採取し、減圧最縮し、凍結乾燥し粉末化して、純度99.9%の高純度αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸に対して、収率約8.0V/VXで得た。

# (3) 理化学的性質

本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸の 代表例として、(2)で調製した高純度αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸標品を用いて、次に示す理化学的性質を調べた。

なお、α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸 よりもα-D-グルコシル基の数の大きいものの例 として、実施例A-1の方法で得たα-D-グリコシ ル-L-アスコルビン酸を用いて、できるだけ調べ、 その性質をカッコ内[]に示した。

・元素分析:C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>11</sub>として

する条件で、37℃、1分間に1μmoleのグルコースを遊離する酵素量をいう。

実験 2 α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸
(1) 嫉転移反応

Lーアスコルビン酸7.04 重量部、マルトース12.8 恒 量部およびチオ尿素0.2 重量部を0.2 M酢酸镁 衝液(pH5.3)100 重量部に溶解し、更に、実験1の方法で調製した部分精製αーグルコシダーゼ 標品をマルトースグラム当り0.5 単位加え、遮光下、50 ℃で5 時間反応させた。次いで、4 倍容の1.06 V/V \*\*メタリン酸溶液を加え酵素を失活させて反応を停止した。

本品を高速液体クロマトグラフィーで測定したところ、反応に用いたLーアスコルビン酸の約30%が糖誘導体に変換していた。

#### (2) 精製

(1) の反応停止液を、Bio-Rad社製造のゲル 進過剤(商品名Bio-Gel P-2)を用いて、水を溶 出液としてゲル濾過クロマトグラフィーを行な い、α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の

理論値C=42.6% H=5.36% 実測値C=42.3% H=5,38% N<0.01%

・分子量:質量分析装置 (日立製作所製、M - 80B) を用いてFDマススペクトルを測定した結果、 (M+H)\*(C<sub>1.2</sub>H<sub>1.8</sub>O<sub>1.1</sub> HV = 338) として339が裁例された。

・紫外線吸収スペクトル:pH7.0で260nmに、pH2.0 で238nmに吸収極大を示す。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・赤外線吸収スペクトル:KBr錠剤法で測定した。 結果は、図に示す。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・NMR: NHR測定装置(日本電子製、JNH - GX400) を用いて測定した。

測定溶媒は重水を用い、測定時の溶液のpliは2. 8であった。

内部標準としてTSP (sodium 3-'trimethyl-s ilylproplomate-2, 2, 3, 3-d4) を用いた。 'N-NMR δppm (D20) 3.50 (1H, dd, J = 9.5, J = 9.7 Hz)

3.56 (1H, dd, J = 3.4, J = 9.5 Hz)

3.75 (2H, d, J = 8.4 Hz)

3.78 (2H, d, J = 3.0 Hz)

3.86 (1H. dd, J = 9.5, J = 9.5 Hz)

4.02 (1H, dt, J = 9.7, J = 3.0 Hz)

4.08 (1H, td, J = 6.4, J = 1.5 Hz)

4.91 (1H. d, J = 1.5 Hz)

5.52 (1H, d, J = 3.4 Hz)

#### ·解雞定数:pKa=3.0

この値を、ゼイ・ゼルノウ(J.Jernov)等、テトラヘドロン(Tetrahedron)第35巻、第1483乃至1486頁(1979年)の第1表およびパオーウェン・ルー(Pao-Wen Lu)等、ジャーナル・アグリカルチュラル・フード・ケミストリー(Journal of Agricultural Food Chemistry)第32巻、第21乃至28頁(1984年)の第2表に示される各種アスコルビン酸誘導体の解離定数(pKa)を参照すると、本物質の場合には、そのアスコルビン酸部分の2位のアルコール基がαー

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

・星色反応:直接還元性を示さず、2,6-ジクロルフェノールインドフェノールを還元脱色しない。2,4-ジニトロフェニルヒドラジン反応を示さない。アントロン硫酸反応で緑色を呈する。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。] ・安定性:

(a) α - グルコシダーゼ作用または1N - 塩酸、 100℃、5分間処理により加水分解され、L -アスコルビン酸とD - グルコースとをモル比 1:1で生成する。

[ グルコアミラーゼにより加水分解され、2 - 0 - α - D - グルコシルーl - アスコルビン酸とD - グルコースとを生成する。]

(b) β - グルコシダーゼによっては加水分解されない。

[本性質と実質的に同一の性質を示す。]

(c) 2-0-α-D-グルコシル-L-アスコル ビン酸と、特公昭48-38158号公朝で開示☆ D - グルコシル結合に関与し、3位のアルコール 基は避難のままであると判断される。

#### ・メチル化分析

前述のバオーウェン・ルー(Pao・Ven Lu)等の文献に記載されているLーアスコルビン酸をジアゾメタンによりメチル化して主に3~0ーメチルーLーアスコルビン酸を生成するメチル化反応の方法により、本物質をメチル化し、次いで、得られるメチル化物を加水分解して分析したところ、主として、3~0-メチルーLーアスコルビン酸とDーグルコースとを生成した。

これらNHR、解離定数、メチル化分析のデータから、Lーアスコルビン酸の2位の炭素のアルコール基がエーテル結合によりDーグルコースとαーグルコシド結合を形成しているものと判断される。

・溶剤に対する溶解性:水、0.1Nーカセイソーダ、
 0.1Kー酢酸に易溶、メタノール、エタノールに微溶、エーテル、ベンゼン、クロロホルム、
 酢酸エチルに不溶。

れている8-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸との水溶液中での安定性を比較した。すなわち、それぞれの試料を過度70μH、pH7.0またはpH2.0に調整して吸光光度計用セルに採り、これを20℃に維持して経時的に吸光光度計によりpH7.0の場合260nmで、pH2.0の場合245nmで吸光度を測定し、その残存率(%)を源定し比較した。結果は表に示す。

	表 .							
Hq	時間(h)	0	0.25	0.5	1.0	21.0		
l ——	2GAsA	100%	100%	100%	100%	100%		
	6GAsA	100%	58%	36%	17%	8%		
	AsA	100%	47%	20%	8%	2%		
· -	2GAsA	100%	100%	100%	100%	100%		
	6GAsA	100%	99%	98%	91%	55%		
	AsA	100%	99%	97%	87%	10%		

(注)  $2GAsAは、本発明の2-0-\alpha-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を意味し、<math>6GAsAは、対照の6-0-\alpha-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を意味する。$ 

表の結果からも明らかなように、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸は、6-0α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸のいずれとも違って、水溶液 中できわめて安定である。

[2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸の性質と実質的に同一の性質を示す。]
・生理活性

#### (a) チトクロームC 選元活性

2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸と、8-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸とを用いて、チトクロームCの還元活性を比較した。

すなわち、0.1 Hリン酸カリウム緩衝被 (pH7.8) - 0.2 mH EDTA 0.5 mL、0.1 mH チトクロームC 0.1 mL、一定量の水を加えて終末被量1 mLとし、これにそれぞれの試料10 mHを含む10 μLを加え、室温にで550 naにおける吸光度の変化を分光光度計

培地中でヒトの線維芽細胞(7×10<sup>4</sup>細胞/
プレート)を1週間培養し、これに<sup>3</sup>HープロリンをmL当り4μCi、βーアミノブロリンをmL当り20μgおよがになるように加えた。 では、24時間培養した。これに10V/VXトリクロの酢酸を加え、培養物中のコラに加入を増加し、増加・カーの分を回収し、増加・カーの分を回収し、pHを調整後、37でなり、10分間に含まれる効果し、pHを調整後、37でなり、10分間に含まれる効果である。

その結果、2-0-α-D-グルコシルー L-アスコルビン酸は、アスコルビン酸 と同等のコラーゲン合成活性を有してい ることが判明した。

なお、6-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸のコラーゲン合成活性は、 これらよりやや劣る傾向にあった。

以上の理化学的性質から、本実験で調製した直

にて測定し比較した。還元活性は、反応 初速度より吸光度差(ΔA)/分/10 μ L を 求め判定した。

その結果、2-0-α-D-グルコシルー L-アスコルビン酸は、6-0-α-D-グ ルコシルーL-アスコルビン酸、L-アス コルビン酸のいずれとも違って、還元活 性を示さないことが判明した。

なお、2-0-α-D-グルコシルーLー アスコルビン酸は、実験1の方法で調製 したα-グルコシダーゼほ品により加水 分解されると、この還元活性を示すこと が判明した。

#### (b) コラーゲン合成活性

2-0-α-D-グルコシルーl-アスコルビン酸と、6-0-α-D-グルコシルー L-アスコルビン酸およびL-アスコルビン酸とを用いて、コラーゲン合成活性を調べた。

すなわち、イーグルHEH (10%FBS含有)

接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコル ピン酸は、

# 式[III]:

ただし、nは0または1乃至 6から選ばれる整数

で示される化学構造を有している。

また、その代妻例としての2-0-α-D-グルコ シルーL-アスコルビン酸は、 式[N]:

で示される化学構造を有している。 実験 3 生体内での生成

ラットに、Lーアスコルビン酸1gとマルトース50 Ong (10 V/V x 液、5 m L) とを経口投与し、経時的に採血し、遠心分離し、その上清(血漿)を用いて、高速液体クロマトグラフィーで確認したところ、αーDーグルコシルーLーアスコルビン酸および少量のαーDーマルトシルーLーアスコルビン酸に相当するピークは、経口投与後30分頃から認められ、180分で最高に達し、その後、急激に減少し、360

とが判明した。

以下、本発明の実施例として、直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルピン酸の製造例を実施例Aで、その用途例を実施例Bで述べる。 実施例 A-1 αーグリコシルーLーアスコルピン

αーシクロデキストリン8重量部を水20重量部に加熱溶解し、選元下に保って、Lーアスコルピン酸3重量部を加え、pH5.5、80でに維持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・グルカントランスフェラーゼ(株式会社林原生物化学研究所販売)をαーシクロデキストリングラム当り150単位加えて40時間反応させた。反応被を高速被体クロマトグラフィー(島本製作所製、LC-8;カラム,YMC A0303 ODS: 溶離液、0.1H KH2PO4ーH3PO4(pH2.0);流速、0.5mL/min:検出、日本分光工業(株)MULT-340)で分析したところ、Lーアスコルピン酸が9.5分の位置に現れたのに対し、新たに生成したαーDーグルコシルーLーアスコルピン酸が11.2分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルビン酸が15.7分、αーDーマルトシルーLーアスコルピン酸が15.7分、αーDー

分で血液中から消失した。

このピークのうち、大部分を占めるα-D-グルコシルーL-アスコルピン酸を示す物質を単離し、詳細に調べたところ、前述の2-Q-α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の理化学的性質と同一であることが判明した。

従って、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、 生体内で生成され、代謝され、消失する生体物質 であることから、その安全性は極めて高いもので あると言える。

## 実験 4 急性毒性テスト

7周令のdd系マウスを使用して、実験2 (2) での方法で調製した高純度αーローグルコシルーLーアスコルビン酸標品を経口投与して急性毒性テストをしたところ、5gまで死亡例は見られず、これ以上の投与は困難であった。

従って、本物質の毒性は極めて低い。

なお、実施例A-1の方法で製造したαーグリコシル-l-アスコルビン酸を用いて本テストを行ったところ、同様の結果を得、毒性の極めて低いこ

マルトトリオシルーLーアスコルピン酸が20.6分、 α-D-マルトテトラオシル-L-アスコルビン酌 が24.9分、α-B-マルトペンタオシル-L-アス コルピン酸が28.1分、α-D-マルトヘキサオシルー Lーアスコルピン酸が32.1分およびα-D-マルト ヘプタオシルーLーアスコルビン酸が38.6分の位置 に現れた。L-アスコルビン酸の約50%がこれらα-グリコシルーレーアスコルピン酸へ変換していた。 本反応液を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾 液を実験2 (2) の方法に準じてαーグリコシルーLー アスコルビン酸の各成分を精製単離し、混合して 各成分を含有したαーグリコシルーLーアスコルビ ン酸を採取し、これを減圧機縮、粉末化してα-グリコシルーレーアスコルピン酸の粉末製品を、固 形物当り、原料のL-アスコルピン酸に対して約90 U/VXの収率で得た。

本品は、直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、

化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-2 α-グリコシルーL-アスコルピン Ma

デキストリン (DE約6) 40重量部を水50重量部に 加熱溶解し、還元下に保って、Lーアスコルピン酸 13重量部を加え、pH5.6、65℃に維持しつつ、これ に、シクロマルトデキストリン・グルカノトラン スフェラーゼをデキストリングラム当り270単位加 えて、40時間反応させた。反応被を、実施例A-1 と同様に高速液体クロマトグラフィーで分析した ところ、Lーアスコルピン酸の約65%が、実施例Aー 1と同様に、α-D-グルコシル-L-アスコルピン 酸、α-D-マルトシル-L-アスコルピン酸、α-D-マルトトリオシル-L-アスコルピン酸、α-D-マルトテトラオシルーL-アスコルピン酸、α-D-マルトペンタオシルーl-アスコルピン酸、α-D-マルトヘキサオシルーLーアスコルピン酸などのαー グリコシルーLーアスコルピン酸に変換していた。 反応液を加熱し酵素を失活させ、濾過し、濾液を 常法により活性炭で脱色精製し、濃縮して、シラッ

ブ状のαーグルコシル糖化合物を含有するαーグ リコシルーLーアスコルビン酸製品を固形物当り原料重量に対して約90V/V%で得た。

本品は、それに含まれる α - グリコシルーL - アスコルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、調味料、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-3 2-0-α-D-グルコシル-L-ア スコルピン酸

実施例A-2の方法に準じて調製したシラップ状の αーグルコシル糖化合物を含有する αーグリコシル・L-アスコルビン酸製品1重量部を水4重量部に溶解し、これにグルコアミラーゼ (EC 3.2.1.3、東洋紡績株式会社販売)を該製品固形物グラム当り100単位加え、50℃、5時間反応させた。反応被を高速液体クロマトグラフィーで分析したところ、各成分を含んでいた αーグリコシルーL-アスコル

ビン酸は、2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸に変換していた。

反応液を加熱して酵素を失活させ、濾過し、濾液を実験2(2)の方法に準じて精製し、2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸高含有固分を採取し、減圧濃縮し、粉末化して、純度99.0%以上の高純度2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸を原料のL-アスコルビン酸に対して約80W/VXの収率で得た。

本品の理化学的性質を調べたところ、実験2 (3) で示す2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸と実質的に同一であった。

本2-0-α-D-グルコシル-L-アスコルビン酸は、直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分なビタミンC強化剤として、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤、化学品、医薬原料などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品、試薬などに有利に利用できる。

実施例 A-4 α-グリコシルーL-アスコルビン 融 デキストリン(DE18)20重量部を水70重量部に加熱溶解し、還元下に保って、これにLーアスコルピン酸10重量部と実験1の方法で調製した部分精製αーグルコシダーゼをデキストリングラム当り4単位加え、遮光下、pH5.0、50℃で8時間反応させた。次いで実施例Aー2の方法に準じて精製し、濃糖、粉末化して粉末状の製品を収率約90V/VXで得た。

本品は、約10V/VXのαーグリコシルーLーアスコルビン酸を含有していた。

本品は、それに含まれる α - グリコシルーL - アスロルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、抗酸化剤、生理活性も充分で、ビタミンC 強化剤としてばかりでなく、調味料、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外棘吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などに有利に利用できる。

実施例 A-5 α-グリコシル-L-アスコルビン 酸

マルトース10重量部を水80重量部に加熱溶解し、 還元下に保って、これにL-アスコルビン酸10重量 部とシグマ社裂コメの種子由来のαーグルコシダーゼをマルトースグラム当り4単位加え、遮光下、pH 8.0、45℃で8時間反応させた。次いで実施例A-2の方法に準じて精製し、濃縮、粉末化して、粉末状の製品を収率約90V/VXで得た。本品は、約15%のαーグリコシルーLーアスコルビン酸を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーLーアスコルビン酸が直接還元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤ばかりでなく、甘味剤、調味剤、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲食物、抗咳受性疾患剤、化粧品などとして有利に利用できる。

実施例 A-6· α-グリュシル-L-アスコルビン 酸

#### (1) αーグルコシダーゼ療品の調製

マルトース4V/V%、リン酸1カリウム0.1V/V%、硝酸アンモニウム0.1V/V%、硫酸マグネシウム0.05V/ V%、塩化カリウム0.05V/V%、ポリペプトン0.2V/V%、

スコルビン酸が直接選元性を示さず、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、甘味剤、調味剤、保湿剤、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外糠吸収剤などとして、飲食物、抗感受性疾患剤、化粧品などとして有利に利用できる。

# 実施例 8-1 チューインガム

ガムベース25重量部及び実施例A-6の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末20重量部とを60℃でミキサーにより混練し、次いで、無水結晶マルチトール(林原商事株式会社販売、登録商標マビット)50重量部、リン酸カルシウム1.5重量部及び 1ーメントールβーシクロデキストリン包接化合物0.1重量部を混合し、最後に調味料少量を混合して充分に混練し、ロール加工、裁断してチューインガムを得た。本品は、ビタミンCを強化したチューインガムであって、しかも低齲蝕性、低力ロリーである。

## 実施例 B-2 求肥

モチ米澱粉1重量部に水1.2重量部を混合し、加

炭酸カルシウム1V/V\* (別に乾熱減菌して植菌時に 無菌的に添加) および水からなる液体培地にムコー ル ジャパニカス (Mucor javanicus) IFO 4570を 温度30℃で44時間 級邊培養した。培養終了後、菌 糸体を採取し、固定化αーグルコシダーゼ標品と した。

(2) αーグリコシルーLーアスコルビン酸の製造マルトース(林原株式会社 登録商標サンマルト)40重量部を水70重量部に加熱溶解し、還元下に保って、これにLーアスコルビン酸10重量部と(1)の方法で調製した固定化αーグルコシダーゼ標品をマルトースグラム当り10単位加え、遮光下、pH

これを譲過し、固定化αーグルコシダーゼ標品を回収し、再利用に回した。得られる譲渡を加熱し、実施例A-2の方法に準じて精製し、濃縮、粉末化して、粉末状の製品を収率約9.5 V/V Xで得た。

5.5、50℃で3時間反応させた。

本品は、約7 V/ V X の α - グリコシルーl - アスコルピン酸を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコシルーίーア

熱糊化しつつ、これに砂糖1.5重量部、結晶性 8 ーマルトース(林原株式会社製造、登録商標サンマルト)0.7重量部及び実施例A-2の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有シラップ0.5 重量部を混和し、以後、常法に従って、成形、包装して求配を製造した。

本品は、ビタミンCを強化した求肥で、老化が抑制され日持よく、口当り、風味良好なきびだんご 風和菓子である。

#### 実施例 B-3 混合甘味料

はちみつ100重量部、異性化態50重量部、黒砂糖 2重量部及び実施例A-3の方法で得た高純度2-0α-D-グルコシルーL-アスコルピン酸粉末1重量 部を混合して混合甘味料を得た。

本品は、ビタミンCを強化した甘味料で、健康食品として好適である。

# 実施例 B-4 チョコレート

カカオペースト40重量部、カカオバター10重量部、無水結晶マルチトール50重量部及び実施例A-1の方法で得たα-グリコシルーL-アスコルビン

酸含有粉末1重量部を混合してレファイナーに通して粒度を下げた後、コンチェに入れて50℃で二昼夜練り上げる。この間にレシチン0.5重量部を添加して充分に分散させた。次いで温度調節器で31℃に調節し、パターの固まる直前に型に流し込み、震動機でアワ抜きを行った後、10℃の冷却トンネルを20分間で透過させて固化させた。これを型抜きして包装し製品を得た。

本品は、吸湿性がなく、色、光沢共に良く、内部組織も良好であり、口中でなめらかに溶け、上品な甘味とまるやかな風味を有する。また、本品は、ビタミンCを強化したチョコレートであって、低力ロリー、低鱗蝕性である。

#### 実施例 B-5 サンドクリーム

結晶性 αーマルトース (林原株式会社製造、登録商標ファイントース) 1,200 重量部、ショートニング1,000 重量部、実施 例Aー4 の方法で 得た αーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末10 重量部、レシチン1 重量部、レモンオイル1 重量部、パニラオイル1 重量部を常法により混和してサンドクリー

粒とした後、常法に従って、ゼラチンカプセルに 封入して、一カプセル150mg入のカプセル剤を製造 した。

本品は、血中コレステロール低下剤、免疫賦活剤、美肌剤などとして、感受性疾患の予防剤、治療剤、健康増進用食品などとして有利に利用できる。

# 实施例 B-8 軟膏

酢酸ナトリウム・三水塩1 重量部、DL~乳酸カルシウム4 重量部をグリセリン10 重量部と均一に混合し、この混合物を、ワセリン50 重量部、木口ウ10 重量部、ラノリン10 重量部、ゴマ油14.5 重量部、実施例A~4の方法で得たα~グリコシル~L~アスコルビン酸含有粉末1重量部及びハッカ油0.5 重量部の混合物に加えて、更に均一に混和して軟膏を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして、更には外傷、火傷の治癒促進剤などとして有利に利用できる。

実施例 B-9 注射剂

ムを製造した。

本品は、ビタミンC強化したサンドクリームで、 口当り、溶け具合、風味とも良好である。

#### 実施例 B-8 錠剤

実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-0-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末20重量部に結晶性β-マルトース13重量部、コーンスターチ4重量部、ルチン1重量部及びリボフラビン0.5重量部を均一に混合した後、常法に従って打錠して、一錠150mgの錠剤を製造した。

本品は、ビタミンC、ビタミンP、ビタミンB2の 複合ビタミン剤で、安定性もよく、飲み易い錠剤 である。

# 実施例 B-7 カプセル剤

酢酸カルシウム・一水塩10重量部、L-乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、マルトース57重量部、実施例A-3の方法で得たα-グリコシルーL-アスコルビン酸含有粉末20重量部及びエイコサベンタエン酸20%含有γ-シクロデキストリン包接化合物12重量部を均一に混合し、顆粒成形機にかけて額

実験2(2)の方法で得た高純度α-D-グルコシルーLーアスコルビン酸粉末を水に溶解、中和し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を20mL容アンプルにα-D-グルコシルーL-アスコルビン酸500mgになるように分注し、これを封入して注射剤を製造した。

本注射剤は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと混合して筋肉内又は静脈内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、安定な製剤である。

本品は、L-アスコルビン酸の場合と比較して、 体内滞留時間が約2万至10倍に延長され、徐々に加水分解を受け、L-アスコルビン酸を放出し、L-アスコルビン酸本来の生理効果を発揮する。

また、本品は、ビタミンC補給としてだけでなく、加水分解され抗酸化剤として活性酸素の除去、過酸化脂質の生成抑制などの効果を発揮し、ウイルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内障、循環器疾患、思性腫瘍など各種疾患の予防剤、治療剤に有利に

利用できる。

実施例 B-10 注射剂

塩化ナトリウム6重量部、塩化カリウム0.3重量部、塩化カルシウム0.2重量部、乳酸ナトリウム3.1重量部、マルトース48重量部及び実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン酸粉末2重量部を水1,000重量部に溶解し、常法に従って、精製濾過してパイロゲンフリーとし、この溶液を減菌したブラスチック容器に250aLずつ充填して注射剤を製造した。

本品は、ビタミンC補給としてだけでなく、カロリー補給、ミネラル補給剤としても利用され、更には、加水分解され、抗酸化剤として活性酸素の除去、過酸化脂質の生成抑制などの効果を発揮し、病中、病後の治療促進、回復促進、更には、ウイルス性疾患、細菌性疾患、外傷性疾患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内障、循環器疾患、悪性腫瘍など各種疾患の予防剤、治療剤に有利に利用できる。

実施例 B-11 程官栄養剤

裕用の褐に100万至10,000倍に希釈して利用すればよい。本品は、入裕用の褐の場合と同様に、洗顔用水、化粧水などに希釈して利用することも有利に実施できる。

#### 実施例 B-13 乳液

ボリオキシェチレンベヘニルエーテル0.5重量部、テトラオレイン酸ポリオキシエチレンソルビトール1重量部、 親油型モノステアリン酸グリセリン1 重量部、ビルビン酸0.5重量部、ベヘニルアルコール0.5重量部、アボガド油1重量部、 実施例A-3の方法で得た高純度2-0-α-B-グルコシルーLーアスコルビン酸粉末1重量部、ビタミンE及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱溶解し、これにLー乳酸ナトリウム1重量部、1.3-ブチレングリコール5重量部、カルボキシビニルボリマー0.1重量部及び精製水85.3重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合し乳酸を製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

結晶性 αーマルトース20 重量部、グリシシ1.1 重量部、グルタミン酸ナトリウム0.18 重量部、食塩1.2 重量部、クエン酸1 重量部、乳酸カルシウム0.4 重量部、炭酸マグネシウム0.1 重量部、実施例Aー5の方法で得たαーグリコシルーLーアスコルビン酸含有粉末0.1 重量部、チアミン0.01 重量部及びリボフラビン0.01 重量部からなる配合物を調製する。この配合物24gずつをラミネートアルミ製小袋に充塡し、ヒートシールして経管栄養剤を調製した。

本経管栄養剤は、一袋を約300万至500mLの水に溶解し、経管方法により鼻腔、胃、陽などへの経口的又は非経口的栄養補給液としても有利に利用できる。

# 実施例 B-12 浴用剤

DL-乳酸ナトリウム21重量部、ビルビン酸ナトリウム8重量部、実施例A-1の方法で得たαーグリコシルーL-アスコルビン酸含有粉末5重量部及び エタノール40重量部を、精製水26重量部及び着色料、香料の適量と混合し、浴用剤を製造した。

本品は、美肌剤、色白剤として好適であり、入

実施例 B-14 クリーム

モノステアリン酸ポリオキシエチレングリコール2 重量部、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5 重量部、実施例A - 3の方法で得た高純度2 - 0 - α - D - グルコシル - L - アスコルピン酸粉末2 重量部、流動パラフィン1 重量部、トリオクタン酸グリセリル10 重量部及び防腐剤の適量を、常法に従って加熱溶解し、これにL - 乳酸2 重量部、1,3 - ブチレングリコール5 重量部及び特製水66重量部を加え、ホモゲナイザーにかけ乳化し、更に香料の適量を加えて撹拌混合しクリームを製造した。

本品は、日焼け止め、美肌剤、色白剤などとして有利に利用できる。

#### [発明の効果]

本文で述べたことく、本発明の新規物質αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、直接還元性を示さず、安定性に優れ、しかも、生体内で容易に加水分解され、Lーアスコルビン酸本来の抗酸化性、生理活性を発揮する。その上、αーグリコシルーLーアスコルビン酸は、生体内で生成され、代謝され

る物質でもあることが判明したことより、その安 全性も極めて高い物質である。

また、αーグリコシルーLーアスコルビン酸がLーアスコルビン酸とαーグルコシル館化合物とを含有する溶液に糖転移酵素を作用させる生化学的手法により容易に生成できることより、経済性に優れ、その工業的実施も容易である。

更に、この直接還元性を示さないαーグリコシルーLーアスコルビン酸は、安定性、生理活性も充分で、ビタミンC強化剤としてばかりでなく、安定剤、品質改良剤、抗酸化剤、生理活性剤、紫外線吸収剤などとして、飲料、加工食品、嗜好物などの飲食物、感受性疾患の予防剤、治療剤、運動では、動力に利用できる。従って、本発明のαーグリコシルーLーアスコルビン酸は広範な用途を育し、これら産業界に与える工業的意義は極めて大きい。

## 図面の簡単な説明 4. 図面の詳細な説明

図は、本発明のα-D-グルコシルーL-アスコルピン酸の赤外線吸収スペクトル図を示す。

#### 特許出願人

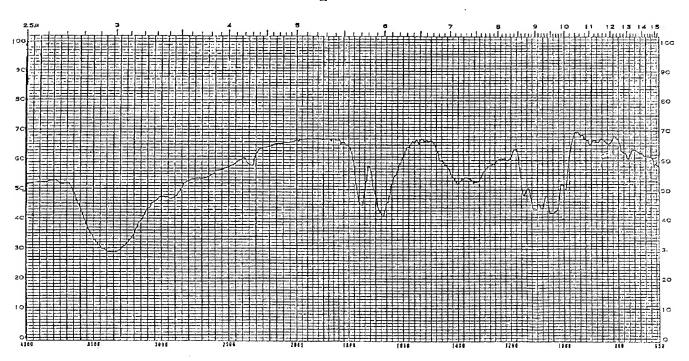
株式会社林原生物化学研究所 代表者 林 原 建工

特許出願人

山 本



20



波数 (CK-1)

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載 【部門区分】第1部門第1区分 【発行日】平成10年(1998)7月28日

【公開番号】特開平3—139288 【公開日】平成3年(1991)6月13日 【年通号数】公開特許公報3—1393 【出願番号】特顯平1—274518 【国際特許分類第6版】

C12P 19/60

A23L 1/03

2/52

3/3562

A61K 7/00

CO7H 15/26

[F | ]

C12P 19/60

A23L 1/03

3/3562

A61K 7/00

F

χ

CO7H 15/26

A23L 2/00 F

#### 李然和正菩

平級8年5月17 B

物并序数官 神川佑二數



1, 事件の製金

平成1年特許開資274518号

2、我明の名称

αーグリコシルー Lーアスコルビン酸とその製造方法並びに用途

3. 相正をする者

李粋との資係 仲許出職人

新山泉岡山市下石井1 下目 2 看 8 号 株式会社体原生物化学研究所

作业者 林 辰 便

4. 補底の対象 明超数全文

5、 確正の内容

明報告生文を、別級のように被更します。



明然

発明の名数
 a - グリコンルーレーアスコルビン酸とその型番方板電話に用途

#### 2. 特許得求の難機

- (1) 関接進元性を示さないエーグリコシルーレーアスコルビン酸。
- (2) 1-アスコルビン酸とα-グルコンル物化合物とを含有する単粒に複似多葉 馬を作用させ、直接基元包を示さないα-グリコンル-L アスコルビン曲を 他成せしめ、これを採取することを特徴とする直接電元性を示さないα-グ リコシルーL-アスコルビン盤の展数方法。
- (8) 製板事業ポンクロマルトデキストリン・ダルカノトランスフェラーゼ (北 2.4.1.18) またはェーダルコンダーゼ (3C 3.2.1.70) であることを特 敬とする特許請求の時間事(2) 深記載の京接瀬元代を尽きないαーグリコシルー1ーアスコルゼン幣の製製方法。
- (4) 底接還元代を示さない。-グリコシルーL-アスコルビン機を含有せしめた 組織物。
- (5) 量成物が、飲食物、抗傷等待疾患耐交は化粧品である物料消染の範囲第(4) )現象数の組織物。
- (8) 乗成株が、直接海沢性を示されいェーダリコシル・レーアスコルビン数を0 ・0011/95以上含有せしめたことを特徴とする特許需求の解歴類(4)又片(5)項 起載の起棄物。
- (7) 2-0-α-3-ダルコシル-L-アスコルビン酸。
- (6) L-アスコルビン値とα-グルコシル値化合地とを含有する消費に特権参数 費または雑気参算家とグルコアミラーゼ(80 8.2.1.8)とを作用させ、2-0 - α-β-ゲルコシルーL-アスコルビン戦を生成せしめ、これを封攻することを特徴とする2-0-α-0-グルコシル-L-アスコルビン職の顕進方法。
- (10) 耕転後罪者がシクコマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーゼ

(RC 2.4 1.13) またはα-グルコシテーゼ (RC 3.2.1.20) であることを特 概とする特許情報の機関第(9)項記載の2-0-α-0-グルコシルーL-アス コルビン機の製造方法。

- (11) 1ーアスコルビン機とαーダルコンル機能を含むを含有する結核に等板を 除業又は複数修算表とグルコフミラーゼ (NC 3.2 L.3) とを作用させて考ら れる2-0-α-3-グルコンルーLーアスコルビン酸、Lーアスコルビン酸およ びD-ダルコースを含有する情報を、高速像をクロマトグラフィー、ゲル構造 クロマトグラフィーエよびイオン交換タロマトグラフィーから数はれるクロ マトグラフィーにかけ、この格材板の2-C-ェーリーグルコシルーLーアスコ ルビン酸高さ有面分を提高することを特徴とする2 0 α 2・ダルコシルー Lーアスコルビン酸の製造方法。
- (12) 2-B-a-b-ゲルコシル-b-アスコルビン戦を含有せしめた組成物。
- (12) 進成物が、数金物、完成受性資原利又は化粧品である特許情求の範囲第 (12)実証数の模談物。
- (14) 起床機が、2-19・カーB・ダルコシルーL-アスコルビン線を6.0014/34以上含有せしめたことを特殊とする特許持束の報記集(18)又は(14)別記載の組ませる。

#### 1. 発明の評解な構築

#### (産業上の利用分野)

本発射は、収穫塩元性をからないαークリコシルーレーアスコルビンをとせい 製造方法並びに用途に関し、関に詳細には、折視物質である直接選元性を光さ ない。一グリコシルーレーアスコルビン陸とその生化学的緊迫力能並びにαーグ リコシルーレーアスコルビン酸を含有せしめた飲料、加工食品、特好性などの飲 気物、熱受性疾患の予防剤、治療剤すなわち抗患発性疾患剤および疾患剤、色 自期などの化粧品なども機能必要が適当に関する。

Lーアスコルビン酸を安定化させる方法として、Lーアスコルビン酸の認根率 体が資素されている。例えば、先に本発明音等が、「ピクミン」第43種、類20 5万第209頁(1971年)、「ピクミン」第47個、第259万面247頁(1973年)およ 近待な明48-28159号公様で、東化学用手供によるL アスコルビン酸グルコシド の会生能を照えしている。

しかしながら、これらのアスコルドン博グルコシドは、いずれも同様の方法で模型され、各られたアスコルビンはについては、例えば、就公規約2両多14万度1ほりで、「坪内馬神体はアスコルビン族の5者の設果の第1アルコール基がエーテル連合によりゲルコシドを影響したもの」と記録され、また、その全域がマルトースからαーダルコシル等の影響が反応であること、更には、面景違元性を示す性質を育することなどから、その化学構造が、近127:

で示されるものであると考えられ、その玄道化の程度についても、波公司実施 例1の表の結果から関らかなように、L-アスコルビン乗よりは優れているもの の、なお不安定であり、未だ実形化されるに売っていない。

また、石戸等が特分所58-5920号公報で、有機化学的系統によるLーアスコルビン重観誘導体の合意法を関示している。

しかしながら、このアスコルビン散制語等体は、該公板第7億第6行乃至終8機 即11行で、2.3ージー3ー(βー3ーグルコピラノンル)ーレーアスコルビン酸な ど21種類ものβー3ーグルコピラノンル間のレーアスコルビン酸糖等媒体を掲げ で載明していることからも明らかなように、すべての3 グルコースが自結合し 【能莱切技術】

レーアスコルゼン重は、 式[1]:

でおされる化学構造を有しており、ヒト、サル、モルモットにとっては、止休 内で会成できず、必要栄養家ピタミンCとなっている。

しーアスコルビン酸は、生体内で、例えば、生体配合組織の主度分であるコラ ゲンの含素に必要なプロリンやリグンのヒドロキンル化度がに関与し、また 、例えば、チトクロームCOTe\*\*\*を報道してす。\*\*\*\*にするなどの酸化選元資本に 関与し、更には、白血水増加による食物増製作列に関与するなどが知られてお り、生体の健設維持、構造に温度が放制をなしている。酸血病は、レーアスコル ビン種の欠乏症として占くから知られ、皮膚の皮膚化、皮状内の、斑状出血、 歯肉や骨細下組度などを長する。これを平衡し、健康を指伸するために、レーア スコルビン酸の推奨(ロ所要は(RDM)が定められ、それによれは我国でお、成 人男子50mac、成人女子50macとされている。

L-アスコルビン県の混沌は、単に必須集権系としてのビチミンC強化制にと どまらず、そのも学事本、生現作用から、例えば、陳味料、課業者、離化助土 州、海色内、安定期などとして各様化学区はおお、飲食物などに、また、ライ ルス色原型、期間性原型、医性原質など等更性疾患の予防制、治療剤すなわち 気勢変性疾患剤に、更には、補充限、無外無限収得、ノラニン生成的制料など の実験別、他内部などとして化粧なほごすで減び、その無調は風みとはい。

L-アスコルビン側の最大の欠点は、それが直接還元性を示すため、極めて不安率で、酸化分解を受け扱く、容易にその生態系数を失うことである。

ているレーアスコルビン産業務等体である。

また、東本軍が韓南昭58-198198号公封で有機化学的手挟によるL-アスコルビン重義着専体の合成法を開示しているが、これもガーグルコシルをのL-アスコルビン連稿前等体である。

また、これらターターゲルコピラノシル型のレーアスコルピン酸粧は海体について、本地明有等が検討したところ、生体、とりわけ、ヒトにおいて、生態的性を充分資産させることの限数にことが作明した。更に、その有機化学的手法による合成協は、反応が複雑で収率も任く、それ故に、経済をが差り、加えて、その機様体の基準性、変性を指揮する上において、相当の困難が浮う欠点のあることも参照した。

製土のように、花業期られているレーアスコルビン重整制画体は、安定性、安 食は、年世間性、最終性などの点で、いずれも不充分であり、その実現を見る に高っていない。

# 【発明が解散しようとする課題】

新来の1-アスコルビン健境務等体の欠れを展演し、安定性に優れ、企体内で し-アスコルビン鉄の生業居性をお分発罪し、しかも無力で安心して利用できる し-アスコルビン保軽活導体の実践が強く望まれている。

#### [課題を解決するための手段]

本名明は、競車のL-フスコルビン接続募準体の欠点を無指するためになされたものであって、とりわけ、生化学的手法による検証装度応を利用し、新しい L-アスコルビン重知誘導体を目指して純度研究を続けてきた。

その結果、底域電光的を示さず、安定性に使れ、しかも集体内で容易に加水 分割され、生態感性の点でも申し分のない転換なし、アスコルビン酸性研媒体を 見にし、更に、その設定力及を削立し、併せてこの前側なし、アスコルビン酸 使音楽はその責計しめた飲食性、抗療を性医原剤、化粧品など各種制成物への 産業を重まして本外別を発成した。

また、半発別のローブリコンルーLーアスコルビン酸が、Lーアスコルビン酸とローブルコシル類化合物とを暴口所改することにより、生体内で生成され、 は異される物質であることが利用したことにより、水溶明のローグリコシルー L・アスコルビン酸は、本来、生体内物質であり、安全性の上からも概想的なし - アスコルビン陸の新規な額誘導体と言うことができる。

ちなみに、有機化学的手法によって合成されるターD-グルコシ戸型のL・ア スコルビン臓動器は体は、生体内で生成されず、従って、を体にとっては異物 と考えられる。

本発明の α-グリコンルーレーアスコルビン酸はその類はを明わず、生化学的 手法による製技であっても、資味化学的学校による製造であってもよい。

しかし、一般的には、安全性、経済性の上から、1-アスコルビン酸とューダ ルコンル特化合物とを含有する複雑に複製等群素を作用させる生化学的手出により生成させるのが望ましい。

本明維書でいう直接観光性を示さないとは、L アスコルビン間の場合とは適って、そのままで、2.6ージタビルフェノールインドフェノールを確元概念しないことを素味する。

本明計事でいうレーアスコルビン酸とは、特に不易合が生じたい扱う、達像の レーアスコルビン酸のかならず、レーアスコルビン酸のアルカリ金属塩苦しくは アルカ!土壌今原地などのレーアスコルビン酸は、または、それらの混合砂を放 生する。使って、本発明の繊維を圧はに用いるレーアスコルビン酸としては、達 ま、遊館のレーアスコルビン酸だけでなく、本窓によじて、レーアスコルビン酸 ナトリウム、シーアスコルビン酸かルシウムなどが適度用いられる。

また同様に、本明無害でいうαーグリコシル・L アスコルビン数、8-0-α -B・グルコシル-L-アスコルビン数などについても、特に不存合が生じない 扱う、起熱の数のみならず、それらの数をも煮味する。

本作用で用いる a - ダルコシル環化合物は、同時に用いる物質な際素によってL - アスコルビン酸から医性変元性を示さない a - グリコシルーL - アスコルビン酸を全成できるものであればよく、供えば、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース、マルトペンタオース、マルトオ・ス、マルトス・フルトオ・ス・マルトペンタオース、マルトオ・ストリン、シリコディストリン、アミロースなどの戦闘部分加水分解性、更には、核化酸粉、熱化酸粉、熱性緩勢などが変重過れて含る。

使って、α-グリコシルー1-アスコルビン酸の生成を容易にするためには、 単純整度素に好るなα-グルコシル料化合物が進ばれる。 例えば、根紅杉郎素として、αーグルコシダーゼ(EC 3.2.1.21)を用いる際には、マルトース、マルトトリオース、マルトチトウオース、マルトベンタオース、マルトへトサオース、マルトへ・アクオース、マルトオクタオースなどのマルトオリゴ制、または、DE約5万至50のデキストリン、最近部分間水分産物などが対演であり、シクロマルトデキストリン・グルなノトランスフェラーゼ(IC 3.4.1.10)を用いる際には、シクロデキストリンまたはOSI来籍の最初報化制からBE約180のデキストリンまでの最終部分間水分開物などが対演であり、αーランラーゼ(EC 3.5.1.1)を用いる際には、DSI来籍の制化取扱からDS約30のデキストリンまでの最初体が加速が発達である。

反応時のレーアスコルビン酸の機度は、適者、17/71以上、道をしくは、約2万 至301/13会有しておればよく、α - グルコシル機化会物の多度は、L- アスコル ビン機に対して、運常、約0.5万至33倍の範囲が野丑である。

本発明に限いる機能移移無は、Lーアスコルビン値とこの移業に取過なαーゲルコシル製化介物と必合有する維護に使用させる時、Lーアスコルビン機を分解 まずに、Lーアスコルビン機の少なくとも2板の崩潰のアルコール表にαーゲル コシルまを1万重数 解影味してαーゲリコシルへLーアスコルビン機を生成する ものであればよい。

関えば、α-グルコンダーゼは、マウスの腎臓、ラットの脳粘膜、イタ、ブタの小原など動物出来の酵米、コメ相子、トウモロウン粒子など植物は米の酵素、更には、ムコール(fucor)質、ペニシミウム(Penticillium)膜などに属するかじ、またはサッカロミセス(Saccharomyces)反などに展する所はなどの産生物を栄養地域で培養し待られる考集性的味の酵素が、シクロマルトディストリン・グルカノトランスフェラーゼは、パチルス(Bacillus)質、クレブンーラ(Hobsiolla)類などに戻する場面を実施出来の酵素が、α-アミラーゼは、パチルス器などに属する影点指量物回来の酵素などが素質温度できる。

これらの秘証的開業は、前記の条件を対足しさえすれば、必ずしも用製して 迂川する必得はなく、満まは、窓牌裏で本発明の目的を増成することができる 、必要ならば、公知の溶積方金で報望して使用してるよい。また、消費の報本 専業を利用することもできる。使用除金量と反応や測とは、密値な期待があ り、両をは、解除性の点から約50至50で削で拡充を持了するように運用金が実

ans.

また、原定化された基本等の素をバッチ式で繰り返し、またはは核式で反応 に利用することも有利に変質できる。

本発明の反応方法は、通常、前述のL・アスコルビン酸とローグルコシル強化 会物とも含有する資料に簡複移酵素を加え、敵障器が充分作用する条件、通常 、可約3万至9、温度約30万至80℃の報酬から通ばれる条件に検持して行う。また、反応中に1ーアスコルビン数が酸化分析を受けるいめで、できるだけ様気または著元状態で選先下に維持するのが望ましく、分乗ならは、ナメ反素、重数 健雄など条件作うせて反応させることも有利に複数できる。

また、必要ならば、輸転な民命能を有する数件制の増加中に、I・アスコルビン酸とローグルコンル酸化合物とを共享させて、その目的物質を也成させることも有利に実施できる。

本発明の個技術元性を栄きない。エーグリコンルーしーアスコルピン酸について 述べると、Lーアスコルピン園の少なくとも1位の炭素のアルコール系にαーDーグルコシル素が複合し、その結合数は、1万角/個長度のグルコンル器が複合し、その結合数は、1万角/個長度のグルコンル器が複合し、その結合数は、1万角/個長度のグルコンルみかなー1、(報合しており、その名々の教質としては、利えば、2-0-α-D-ツルコシルーしーアスコルピン酸、2-0-α-D-ツルトトリオシル・しーアスコルピン酸、2-0-α-D-ツルトトリオシル・しーアスコルピン酸、2-0-α-B-マルトペンテオンル・しーアスコルピン酸、2-0-α-B-マルとペキサオンル・し・アスコルピン酸、2-0-α-B-マルとペキサオンル・し・アスコルピン酸、2-0-α-B-マルとペキオンル・し・アスコルピン酸にはななるとはなせる場合には、適像、2-0-α-B-グルコシルーしーアスコルピン酸に、2-D-α-B-マルトシルーしーアスコルピン酸に、2-D-α-B-マルトシルーしーアスコルピン酸。2-0-α-B-マルトリオシルーしーアスコルピン酸に、2-0-α-B-マルトトリオシルーしーアスコルピン酸などを選ぶして生成させることもできる。

シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーザウェーアミラーゼ ドよって生成させる場合には、一登に、ローグルコンゲードの場合よりもロー リーグルコシル書の助合数の大さいものまで混立生成させることができ、使用するローグルコシル物化合物によっても更加するが、一般的には、シクロマルト 泉上墨べたように、各種方数により生味せしめた乾酸混元性を定さないα~グリコンルーレーアスコルビン酸含有酸酸は、一度に、α-グリコシルーレーアスコルビン酸のみならず、未返定のレーアスコルビン酸。α-グルコンル総化合物などを含有しているけれども、そのままで、α-グリコシルーレーアスコルビン酸含有製品にすることができる。過度は、反応物質を加速するなどして酵素を失怒させ、過速、漁嫌してシラップ状の、更には、乾燥、粉末化して粉末状のα~グリコシルーレーアスコルビン酸含有製品にする。

更に、精製された αーグリコシルーLーアスコルビン酸製品を製造する場合には、αーグリコシルーLーアスコルビン酸と未収給のLーアスコルビン酸、Bーダルコース、αーグルコシル類化合物などからなる境体物との分子道、熱和生などの強いを利用する分割手段、防えば、反分離、カラムタロマトグラフィー、高速放体クロマトグラフィー、ゲル減過タロマトグラフィー、イオン交換タロマトグラフィーなどの方法で分離すれば、高額点の製品を得ることも容易に減減することができる。この際、分離されるLーアスコルビン院、α グルコシル基化合物などを、再度、製紅部皮成の取料として用いることも有利に実践できる。また、機転移反応終了後、クロマトグラフィーなどの分離が最にかけるまでの間に、必要ならば、耐えば、反応減を加熱して申じる不能物を進光して齢よした。 接続最大で公束して反応減中加熱して申じる不能物を進光して齢よした。 接続最大に公共に

表面を表したり、 陽イオン交換製取(IIII) で見られラルしたり、除イオン交換 製限((IIIII)) に機能させて水で水洗し、3ーグルコース、αーグルコース硬化会 株などを除去した後、アニオン客しくは塩製粉製などで蒸煮製造するなどの格 製造を製金せて利用することも設定である。

- このようにして得られるσ - グリコシルーLーアスコルビン酸は次の特長を省 している。

- (1) 直接選売性を示さず、含わめて支重である。Lーアスコルビン酸とは違って、メイラード反応を起こしにくい。従って、アミノ酸、ペプテド、蛋白質、粉質、物質、生理結性物質などと非存しても無利の反応を起さず、むしろ、これら物質を変更化する。
- (2) 加水分解を受けてレ・アスコルビン酸を生成し、レーアスコルビン酸と間値の運託作用、抗酸化作用を示す。
- (3) 体内の酵素により、Lーアスコルビン酸とDーダルコースとに容易に加水分解され、L アスコルビン酸本来の生殖差性を示す。
- (4)1・アスコルビン酸とαーグルコシル製化会物などとを採口無限すること Kより、年体内で生欲され、代表される物質であることから、その安全性は 強めて高い。
- (1) ローダルコンルば化合物などの結果を含有する理点の場合には、ューケリコンルーレーアスコルビン機の無果を発展するのみならず、機関が破移、構設効果や、甘味効果を発性することができ、また、物質を除去した検型製品を組合とは、以前、増建効果は低いものの、少量でューダリコンルーレーアスコルビン廃本業の効果を発揮することができる。

これらの特異から、和後退元性を示さない。一グリコシルーレーアスコルピン 配は、安定性、安全性の高い天然型のピタミンC値化剤としてばかりでなく、星 味改善別、酸味料、安定料、1.6首次見期、抗酸化剂、紫外線吸収用などとして 、核交割、物巧物、また、ウイルスを安全。場間性疾患、至性健康などの感受 性疾患の予防期、治療利、実には、強肌剤、色白剤などの化性異など、各種組 成物に配合して、逆よしくは、0.0019/18以上配合して利用に知用できる。

また、αーグリコシルーと アスコルビン教は、歴珠、塩から採、救珠、青珠 - 高年などの単株を有する各種物質ともよく調和し、耐機性、耐熱性も大きい ので、養養一般の飲食物、味が物、剤をは、糖剤、炒水袋薬、皮膚、ガガ味噌 、もろび、ひしお、フリカケ、マヨネーズ、ドレッシンダ、金酢、三杯酢、粧 末すし酢、中毒の素、天つゆ、畑つゆ、ソース、ケチャップ、機関のタレ、カ レールウ、シチューの裏、スープの素、ダンの素、複合機は料、みりん、新み りん、テーブルシュガー、コーヒーシュガーなどの各種資味料、せんべい、あ られ、おこし、カリントウ、収配、酢塩、まんじょう、ういろう、おん葉、羊 集、水羊頭、第虫、ゼリー。カステラ、触蓋などの各種有塩子、パン、ピスケ ット、クラッカー、クッキー、パイ、ブリン、シュータリーム、ワッフル、ス ポンジケーキ、ドーナツ、チョコレート、チューインガム、キャテメル、キャ ンデーなどの各種洋菓子。アイスクリーム、シャーペットなどの水菓、水敷だ どのシロップ最、パタークリーム、カスタードクリーム、フラワーペースト、 ピーナッツペースト、フルーツペーストなどのスプシッド、ペースト語、ジェ ム、マーマレード、シロップ最、動業などの裏気、野菜の加工を品頭、パン動 、頻繁、米頻期、人造内などの袋類加工食品額、サラダオイル、マーガリンな どの前胎煮品類、福神蔵、べったら黄、干枚液、らっきょう液はどの摘物類、 たくあん演の表、白菜間の素などの技物の素類、ハム、ソーセージなどの香肉 聖品類、魚肉ハム、魚肉ソーセージ、カマボコ、チクワ、ハンペンなどの魚肉 製品、ウニ、イカの塩辛、酢コンプ、さきするめ、ふぐのみりんそしなどの各 植ቃ味質。のり、山澤、する心、小魚、貝などで製造されるつくだ素質、煮豆 、ポイトサラダ、コンゴ各、天おらなどのそう薬食品、増糸卵、乳飲料、バタ …、チーズなどの卵、乳型品、魚内、青内、果実、肝薬などのビン誌、缶詰家 、合物系、健連振、果実層、準備などの簡単、コーヒー、ココア、ジュース、 素、紅茶、ウーロン茶、炭酸製料、乳酸飲料、乳酸酶飲料などの溶解飲料水、 プリンミックス、ホットケーキミックス、即席ジュース、即席コーヒー、興度 しるこ、即席スープなど印度教会者などに、ピタミンC独化剤、最終教養剤、酸 味剤、高質淡泉剤、安定剤、抗酸化剤などの目的で有利に利用することができ る。また、家畜、家食、産蜂、蚕、魚生どの飼育動物のための飼料、餌料など にピタミンC強化療、風味改善剤、抗酸化粧、暗料整衡上などの目的で配をして 利用することも好無合である。

その後、タバコ、トローチ、肝療ドロップ、養育ビタミン層、自甲液成熟、

日中智院、うがい系、原管保養剤、内屋裏、注射剤、核歯みかき、口紅、アイシャドウ、乳液、化粧水、クリーム、ファウンデーション、日焼け止め、効剤で放、シャンプー、リンスなどの各種温技、ペーストは、複数の電好物、総を性医連の子物剤、治療制でなわら近常受性疾患剤、発見剤、や自制などの化能ななどに配合して利用することも有質に実施でき、更には、常外機就以前、第代移動は対象、第のに対し内などとしてプラステック製品などに配合して利用することも、4・グチコジド加水分配酵素の割定用器質などに別用することも有利に実施できる。

また、化粧品の複合も、大体、食道の予防剤、治療剤に難じて利用することができる。

a グリコンルー1・アスコルビン酸を含有せしめる方法としては、それら各種組織物の貿易が完成するまでの工程で、例えば、別利、施控、路原、技術、飲布、飲布、快等、供料、仕入など公知の方法が適宜さばれる。

また、本発明のαーグリコンルーL-アスコルビン酸、または、2 0-α-D-グルコシルーL-アスコルビン量が、遅越の腰の場合には、必要により、これを水酸化全器、炭酸金属などの水溶破と反応させて、2-D-α-B-グルコピラノンル-L-アスコルビン酸の塩、併えば、ナトリウム塩、カルシウム塩。マグネッウム塩、気塩、周塩、原熱塩などにして、μ1消死するとともにビタミンCF-用と:キコルとを使せ持つ物質を倒撃し、これを果実致化料、化学選及などと して耕用することも食物に実質できる。

以下、本発明の国鉄表元性を示さないs = グリコシルーL = アスコルビン酸の 代表例を実験を用いて詳細に裁明する。

#### 実験 し αーグルコシダーゼ標品

ラットの小聯を9.1%リン度権制的核(pB7.0)に201712になるように加え、これをホモゲナイザーで均質化し、減心分離(4.080×g、10分間)し、この上部にメルク社製トリプシンを終末機宜9.1g/Iになるよう加えて実践下で4時間維持し、次いで冷エタノールを2付き加え、減心分域し、この比減を0.01%リン酸塩価額減(pB7.0)におかして、早身度に入れ、同識指板に対しで45分間流行した

その後、常生に従って、BEAS・セルロースカラムクロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトカラムクロマトグラフィーにかけ、αーグルコシダーゼ度 性耐力を採収し、これを確認を適したものをαーグルコシダーゼ報品とした。 本品は比較性50.8(単位加x限白質)で、規模で率450位、活性収率的47%であった。

実験 2 α-0-グルコシルー1-アスコルビン検

#### (1) 物钛谷反応

L-アスコルビン障7.04底量部、マルトース12.8変量部によびテオ以来0.2 変量制を0.24件階級数数(pli5.3)100変量年に治解し、更に、契款1の方法で 再製した割分階級エーブルコンダーで構造をマルトースダラム当り0.5型位加 大、進光で、50℃で5時間反応させた。及いで、(位等の1.05F/X3メクリン強 消費を加え資素を未改みで7度にを体をした。

本品を高速森体クロマトグラフィーで測定したところ、反応に用いたに一ア

スコルビン側の約303×1数解導体に乗換していた。

#### (2) 10 10

(1) の反応付止技を、Bis-Rud礼製売のマル連追溯(商品名 Bis-Gel P-2) を用いて、水を路出表としてゲル油通クロマトグラフィーを行ない、α-0-グルコシルーレーアスコルビン機の場合有耐分を採取し、次いて島祉制作所製 あのカラム(商品名 Shiz-pack OBS)を用いて、0.3 Y/IX野機を宿出家として 再選派体クコマトグラフィーを行ない、α-1-グルコンルーレーアスコルビン機高 有面分を採取し、属圧舞船し、覆約電乗し粉末化して、純度99.9%の 余約度α-8-グルコシルーレーアスコルビン機隔条を、反応減中のα-1-グルコシルーレーアスコルビン機関係を、反応減中のα-1-グルコシルーレーアスコルビン機に対して、収率約837/ISで発売。

#### (3) 混化学的性質

本他例の α - グリコンルーL-アスコルビン酸の化多例として、(2)で調製した名詞技 α - B - グルコシルーL- アスコルビン整着品を知いて、次に示す 選化学的性質を調べた。

なお、 $\alpha = \theta = f N \pi$  シルールーアスコルドン歳よりも $\alpha = 3 = f N \pi$  の数の大きいものの親として、後に述べる実施例》 【の方法で得た $\alpha = 0 = f$  リコシルーL = アスコルピン歳を用いて、できるだけの最重内で誰べ、その後 質をカッコ内【 ]に示した。

· 元素分析:CiaBiaOiaとして

PISA W C = 42.6% II = 5.36%

央議信C=4Z.3% H=5.38%

N < 0.01%

- ・分子墓:質量分析変量 (日立製作所製、21-805)を用いてPDマススペット ルを消度した結果、(5+5)\*(C++B++0++ 21=-938) として339が軌測された
- ・紫外線歴収スペクトル:pU7.0で260mmに、pB2.0で858mmに吸収拡大を示す
  - 【支性質と緊関的に関一の性質を示す。】
- ・非外籍敬収スペクトル:UBr位配往で創定した。

結果は、同に示す。

#### 妖した。

これらNBB、解草定数、メテル化分析のデータから、1-アスコルビン 度の2位の成本のアルコール基がエーテル製金により3-グルコースとロ -グルコンド紡会を拒載しているものと礼斬される。

・府剤に対する形解性: 水、0.1Nーカセイソーダ、0.1Nー労働に長齢、メタ ノール、エタノールに維体、エーテル、ベンゴン、クロロネルム、野栗 エチルに不能。

【本性気と気質的に同一の性質を示す。】

・最色度必:直接電気性を示さず、2.6-ジクロルフェノールインドフェノールを導元減色しない。 5.4-ジニトロフェニルヒドラジン反応を必さない。 アントロン政権を応で無色を呈する。

(本性質と実質的に関一の性質を示す。)

#### · 女业特:

(a)ローグルコンダーゼ作用または1年 経験、100℃、1分階施度により施水分解され、1ーアスコルビン検と5-グルコースともモル比い1で生成する。

【グルコアミラーゼドより加水分解され、2-0-a D-グシコシルー L-アスコルビン酸と6-グルコースと全年底する。)

(b) B - ダルコンダーゼによっては加木分解されない。

[本性質と実質的に訂一の性質を示す。]

(a)1-0-a-b-グルコンル L アスコルビン酸と、特合1付48-58138 与公利に関係されている0-0-α-D-グルコシル し アスコルビン 触およびL-アスコルビン際との水落着中での安定性を比較した。すな わち、それでれる試料を製度70μ以、pNT.0または602 0に刺棄して制発 力度計用セルに乗り、これを20℃に維持して影味的に吸充の定針によ りpU7.0の場合250amで、pN2.4の場合255amで決定を創定し、その決 符写(5)を例定し比較した。始果を公表に表す。 1 本性質と影響的に同一の性質を示す。1

- NKR: NNR側定数距(日本電子製、:NX - GX400)を用いて創定した。

御里邦雄は森水を用い、測定時の海薮のpliは2.8であった。

内即振端としてTSP(sodium 3ーtrimetry) — sitylpropionale - 2。 3。 。3ー4・)を払いた。

# 18-HNR & ppm (0:0)

3.50 (iii. dd,  $J \sim 9.5$ , J = 9.7 (iz)

3.56 (18. ad, J = 8.4, J = 8.5 f(x)

3.75 (28, d, J-6.4 Ex)

3. 78 (28, d J=3.0 Ez)

3. 86 (1%, dd. J=9.5, J=9.5 Ex)

4. 02 (18. dt. 1 = 9.7. J = 3.4 Hz)

4.38 (IB. td. f=6.4, J=1.8 Bz) 4.81 (IB. td. J=1.5 Bz)

5.52 (18, d, J = 3.4 Be)

#### ·解學定数:pRa=8.6

この値を、ゼイ・ゼルノの(J.Jarnor)は、チトラへドロン(Tetratication)第35名、第1488万第1488刊(1379年)の第1数およびパオーウェン・ルー(Feo-Pen Le)は、ジャーナル・アグリカルチェフル・フード・ケストリー(Journal of Agricultural Food Cheafetry)第32巻、第31万元22章(1884年)の第2数に示されるを置フスコルビン解制体体の解点実験(pta)を参照すると、本物質の場合には、そのアスコルビン指制の2位のアルコール高がローローグルコンル結合に関与し、3位のアルコール高は対解のままであると判断される。

#### ・メチル化分析

資益のパオーウェン・ルー(Para Pan Lu)等の文献に記載されている レーアスコルビン類をジアゾメタンによりメテル化して主に3-0-メテル ・L-アスコルビン類を生滅するメデル化反応の方法により、本権資をよ 方が化し、次いで、移られるメテル化物を加ま分解して分析したところ ・まとして、3 0 メテル・レーアスコルビン酸をレマがルコースとチェ

K

pi)	<b>*(II)</b>	0	0.25	0.5	1.6	21.0
7. 0	2GA&A	100%	100%	100%	j D f•R	1.00%
	6GA&A	LBUX	b 85	56%	176	8 %
	Ask	LOUN	475	204	83	2.2
2.0	2CAs#	1 0 0 K	1.001	1004	109%	0.00x
	#GAsi	100%	99%	984	918	551
	١٨٨	100%	993	97%	87X	19%

(性) 2C4sAtt、本美明の2-9-α-δ-ゲルコシル-L-アスコルビン値を 素体し、5C4aAtt、対距の8-0-α-β-ゲルコシル-L-アスコルビン 液を、AsAtt、対距のL-アスコルビン線を電味する。

表の結果からも明らかなように、2-0-a-0-グルコンル・L-アス コルビン製は、8-0-s B-グルコンル・L-アスコルビン製は、L-アス コルビン関のいずれとも違って、水布度ツできわめて安定である。

f ℓ 0 - α - D - グルコシル - L - アスコルビン酸の性質と実質的に同一 の性質を示す。 j

# ・坐理時性

#### (a)チトクコームE雇元活性

2-0- α-3-ダルコシル - し アスコルビン機と、5-0- α-6 - グルコシル-L-アスコルビン機および1-アスコルビン機とを用 いて、チトクロ-ACの選先を触を比較した。

すなわち、0.14リン酸カリウム糖素液(p\$7.8)-0.2m8 EDYA 8.6m.0.1=4チトウロームC 6.1mL、一定量の水を加えて軽水液量1m.1とし、これにそれぞれの監例10m8を含む10 41を加え、整塊にて6.80mにおける販売屋の変化を分丸光度剤にて例定し比較した。差光 活強は、反応初度度より販売屋後(5 A) /// //10 41を束め刺家した

その結果、2-0-c-D-グルコシル・し-アスコルピン療は、6-0-c-D-グルコシル・1・アスコルピン療、1・アスコルビン酸 のいずれとも違って、選売所体を示さないことが制限した。

なお、 Σ-β-α-D-ダルコシル-L-アスコルビン酸は、興味し の方法で開制したα-ダルコシダーゼ県品により加水分割されると

、この類元純性を示すことが判明した。

## (14)コラーゲン合成括性

2・0・α - D - ゲルコッルーt - アスコルビン酸と、t - D - α - D - ゲルコシルー。- デスコルビン酸およびt - アスコルビン酸とを用いて、コラーゲン合成汚性を調べた。

すなわち、イーグル NEDF (104FBSを付) 水地中でヒトの繊維学録 題 (7×10'無限/ブレート)を1週間希美し、これに"B-プロリンを RL型の4単CL、ターフミノプロピオニトリルをRL型の128は近され れぞれの放射を3.28mNになるように加え、更に、24機関発達した。 これに107/Y3トリクロド除戦を超え、均差物中のコラーゲン成分を 関収し、連封体機した。この核画を指揮し、Bを関係後、27℃、3 8分間のラゲナーゼ(同型)も選挙行ない、減心分割し、この上指 に含まれる数別設全が設定してラーゲン合成的性を求めた。

その新葉、2~0~ェーD グルコシルー(- アスコルビン理は、ア スコルビン環と再等のコラーがン合業者性を有していることが判別 した。

なお、 6・・0・ σ − D − グルコシルー1 − アスコルピン酸のコラーゲン合成近性は、これらよりやや劣る種質にあった。

以上の現化学的快質から、本実験で興製した直接着見性を示さないα ダ リコシル・1・アスコルビン種は、

はクロマトグラフィーで確認したところ、α・D-グルコシルーU-アスコルビン議および少量のα-D-マルトシル-U-アスコルビン酸に相当するピークは、毎日収与後39分域から認められ、180分で最高に達し、その後、金濃に電少し、380分で血液中から消失した。

このピークのうち、大部分を占めるセーB-グルコシル・L-アスコルビン酸を示す物質を開放し、影響に調べたたころ、最近の8-0-ェーB-グルコシル・ し-アスコルビン酸の単化学的性質と同一であることが何明した。

使って、a=0りコンルーLーアスコルビン家は、生体内で私域され、代謝され、 れ、別なする生体物質であることから、その安全性は極めて高いものであると およる。

## 実験 4 象性症性テスト

- 7週年のdd系マウスを使用して、実験2(2)での方法で調製した高級度ェーローグルコシル レーアスコルビン数保品を終り換与して急後等性テストをしたところ、作成1kg当たり5kgで発亡例は見られなかった。

#### 従って、本物質の特性は極めて悪い。

なお、株に注べる実施例λ-1の方法で製造したα-グリコシル・ハーアスコル ビン蔵を用いてギデストを行ったところ、同様の対策を得られ、資格の組めて 扱いことが特別した。

以下、本発明の実施制として、直接運光性を示さないαーグリコシルーレーアスコルビン酸の製造例を実施制かで、そのαーグリコシルーエーアスコルビン酸の各種無駄物への排産例を実施例3で述べる。

#### 支統例 4-1 αーグリコシルーL-アスコルビン酸

4 ーシクロデオストリン9面異体を水30重量部に加加者所し、通元下になって、1-アスコルビン検4重量器を加え、pDS.5、60℃に負持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・ダルカノトランスフェラーゼ(株式会社村選生物化学 研究所販売)をコーシクロデキストリングラム生り150型位加えて4(時間反応させた。5.応収を再達減化クロマトグラフィー(高準量作所要、10-6:カラム、1 は C 49802 0DS:接敷紙、0.12 K 8,90、-13 k 1,90、(p12.0); 流流、0.5 k 1/p1.1 液位、1 本分素工業長、29U.T-340)で分析したとごろ、1-アスコルビン検が4.5分の位置に収入なのに対し、新たに重要したα-D-ダルコンル-L-アスコルビン被数に収入なのに対し、新たに重要したα-D-ダルコンル-L-アスコルビン被数

Z.[ 0 ] :

ただし、addig たは1万里 BAJ ほどりでかめ

#### で示される化学構造を有している。

また、その代表例としての 2 - 0 -  $\alpha$  - D - グルコシルー1 - ブスコルビン酸は、

#### 五[N]:

で示される化学構造を有している。

#### 実験 3 生体内での非義

ラットに、4- アスコルビン酸 lub・マルトース500mg(t05//kk)、5ml)とを基 口扱つし、経時的に採血し、液心分離し、その上滑(血媒)を用いて、高速度

が11 2分、α - D - コルドシル・L - アスコルビン酸が15-7分、α - D - コルドトリオンルートーアスコルビン酸が24.6分、α - D - マルトトナトラオシルートーアスコルビン酸が24.6分、α - D - マルトトナトラオシル・L - アスコルビン酸が28.1分 いっしってルトペンタオシル・L - アスコルビン酸が28.1分 いっしってルトペーキサオシルーしーアスコルビン酸の33.6分の位置に遅れた。トーアスコルビン酸の約50.8がこれらα - グリコシルー1 - アスコルビン酸へ変数していた。本反応表を加強して発音を実験された。 被減し、維減を実験2(2)の方法に準じてα - グリコシルーL - アスコルビン酸を各類が単数し、混合してを収分を含有したα - グリコンルー1 - アスコルビン酸を軽減し、これを能圧萎縮、物を含有したα - グリコンルー1 - アスコルビン酸を料定しる。 超級輸出の、原料のしてスコルビン酸の対水製品を、超級輸出、原料のしー・アスコルビン酸に対して物900//%の原準で得た。

本品は、護援運光性を示さず、安定性、生理結性も充分で、ビタミンC加化剤 としてばかりでなく、安定剤、温質性食剤、抗酸化制、生型培性用、除外線吸 収測などとして、飲食物、抗糖受性疾患剤、化粧品など、各種剤は物への用途 に利利に利用できる。

#### 実施例 A-2 αーグリコシル L-マスコルビン側

アキストリン(05約5)40受動部を水50乗量部に加熱冷解し、遊走でに催って、L・アスコルビン限15型景部を加え、p85.6、85℃に維持しつつ、これに、シクロマルトデキストリン・グルカノトランスフェラーボモデキストリングラムカタ70単位加えて、40時間反応をせた。反変放を、実施資本1と同様に高速液体クロマトグラフィーで分析したところ、L・アスコルビン酸の約50kが、実施例入-1と同様に、αーDーマルコシルーLーアスコルビン酸、αーDーマルトシルーLーアスコルビン酸、αーDーマルトマンタオシルーLーアスコルビン駅、αーDーマルトスリルビン駅、αーDーマルトで、カルビン駅、αーDーマルトへキサオシルーLーアスコルビン駅、αーDーマルトへキサオシルーLーアスコルビン駅、αーDーマルトへキサオシルーLーアスコルビン駅、αーDーマルトへキサオシルーLーアスコルビン間を発送して、適適し、適度を常振により低性変更していた。反応核を加熱し更多を失活させ、減適し、適度を常振により低性変更のでは疑し、強適して、シファブ状のローグルコシル再に合物を含有するューグリコシルーLーアスコルビン酸要品を包影を当り原料電量の原料を出た。

本品は、それに含まれるロージリコンルーレーアスコルドン酸が直接激光性を

不さず、実定性、生理所性も充分で、ビタミンC飲化剤としてばかりではく、加 株利、保証剤、安定剤、品質水及剤、抗酸化剤、半度物性剤、常外経验収剤に どとして、飲食物、其態受性疾患剤、化粧品など、各種組収等への用途に有別 に特別できる。

実施例 4~3 2·0~c~3~グルコシル~L~アスコルビン機

実施例 4-2の方法に取じて選到したシラップ状のα-グルコシルは化合物を 会有する ε-グリコシル・L. アスコルピン放製品 1 燃量的を水水気着作に解解し 、これにグルコアミジーゼ(kc 3.2.1.3、単体的模様式会任展集)を被要品面 影像グラム当り100単位加え、50°C、5時間反応させた。反応放を高運液体クロ マトグラフィーで分析したところ、多数分を含んでいたューグリコシルーLーア スコルビン教は、2.0-α-3-グルコシル-L-アスコルビン像に延進してい た。

反応兼を加帆して即乗を失信させ、推通し、証確を実験1(2)の方法に乗じて特別し、2~5~4~3)・グルコシル・L~アスコルビン産業合有部分を採取し、紙工製物し、砂本化して、純佐93・05以上の高純度2~5~4~9~グルコシル・b~アスコルビン費を収料のL~アスコルビン酸に対して約807/7kの収率で得た。

本品の理化学的性質を調べたところ、実験3(1)で示す2・0-a・D ダルコンルーレーアスコルピン酸と実質的に終一であった。

本2-0- a -D-グルコシル-L-アスコルビン酸は、個核果元性を示さず、 安定性、生理試性も実分などとして特化別として、安定機、各質改良部、技能 化剤、生理病性剤、素外被重収剤、化学品、医薬原料などとして、放金物、抗 優受性悪無剤、化可息、試真など、多種粗潔物への用途に有利に利用できる。 貴種関 A-1 a - グリコンル-L-アスコルビン酸

デキストリン (3B18) 20重量値を水70重量値に加納機解し、選叉下に従って、これにリーアスコルビン酸 10階級部と実験10 方法で調製した部分特製ローグルコンダーゼをデキストリンプラム協り4即位加え、導光ド、pHS-J、50℃で8時間反応を甘た。次いで実施到3-2の方法に築して接賀し、漁輸したは、砂水化して料度状の基準を収集的50円/8時で進ん。

本品は、約100/7%のローダリコシルーレ アスコルビン機を含有していた。

本品は、それに含まれるαーグリコンルーLーアスコルビン種が監接器元性を ボキず、実実性、高環化制、生態品性も充分で、ビタミン(液化剤としてはかり でなく、調味料、保護剤、安定制、温質及良利、抗酸化剤、生理を注射、繁外 減勢収割などとして、放血物、抗移多性疾患肉、化粧品など、各種組成物への 用途に有利に実用できる。

実施例 も 5 αーグリコシルーレーアスコルビン数

マルト・ス16重要加モ水80変計型に加熱変解し、変元下に係って、これにレフスコルビン度10変長型とシグマ発展コメの物子由来のローグルコシデーセキマルトースグラム当り4甲型原文、進光下、#16.0、55でで特別したさせた。ないで実達例4-2の方法に単して情景し、満層した後、粉末化して、数末状の製品を収集的905/78で得た。本品は、約158のローグ )コンルーLーチスコルビン度を含ましていた。

本品は、それに含まれるαーグ JコシルーLーアスコルビン酸が直接還元性を示きず、実定性、生理施致も充分で、ビタミンC酸化剤はかりでなく、甘味素、調味素、保養剤、安定剤、品質改良剤、抗菌化剤、生理粉肪剂、生料酸収剤、ほどとして、最食物、洗尿薬型原果剤、化粧品など、多種組成物への用途に有利に利用できる。

実験代 A-6 α・グリコシル・5-アスコルビン数

(1) ローダルコシダーを収益の調製

マルトース47/7%、リン酸1カリウム0.19/1%、硝酸アンギニウム0.19/7%、硫酸マグネシウム0.031/7%、左位エリウム0.039/7%、ボリベアトン0.23/7%、炭酸カルシウ人13/7%(別に発布製造して護海野に収薄めに添加)および水からなる液体増増にムコール・ジャパニカス(Nuper javanicus) IPD 4576を復度20でで41時間無数減乏した。均差終了後、高泉体を経滅し、間定化コーダルコンダーを構造とした。

(2) αーグリコシルー1-アスコルビン機の製造

マルトース(朴原体式会社 登録有様サンマルト)40重量部を水70重量部に加熱物料し、湯元下に依って、これにレーアスコルドン難11至量部と(1)か方法で調製した国民化セーダルコシゲーゼ福品をマルトースグラム当り10単位加え、減免下、pHS.5、50℃で9時間反応させた。

これを卓越し、固定化αーゲルコシゲーゼ機品を同収し、再利用に関した。 ほうれる試験を加熱し、実施利λ-2の方法に申じて限製し、機械した強、粉水 化して、粉水状の製品を収率約967/18で得た。

本品は、約77/98のαーグリコンルーLーアスコルビン理を含有していた。 本品は、それに含まれるαーグリコンルーLーアスコルビン酸が直接選定性を まさず、安宝物、年度消耗も充分で、ビタミンC性化剤としてはかりでなく、甘 集解、福味剤、得湿剤、安定剤、品質な物剤、抗酸化剤、全理過程用、デ外線 電理剤でどんして、飲食物、紅葉及性疾患剤、化粧品など、多種組成物への用 悪に有名に利用できる。

**英葉例 B 1 ナューインガム** 

ガムベース25家 無額及び臭塩何1-8の方法で得たローグリコシルーし、アスコルビン教会有額末20定量得とそ80ででミキサーにより勤齢し、次いで、無水始島マルチトール(林賀海事株式会社追光、登姆商展マピット)50重量部、リン衆カルシウム1.5高重量及び1ーメントールメーシクロデオストリン包液化合物。11重量部を複合し、最後に高味料の量を認合して充分に減減し、ロール加工、及廃してチューインガムを特た。本品は、ピタミンCを数化したチューインガムであって、しかも保険物性、従カロリーである。

突旋倒 B 2 桌匠

モチ朱原約1世景町に水1.2高量部を集合し、海軌間化しつつ、これに移輸1. 5度差割、輸品性ターマルトース(朴原朴式会社製造、登録的様サンマルト) I - 7末番事及び実施利1-2の方法で得たαーグサコシルーLーアスコルビン総合有 ファブ8.5素素卵を展制し、放後、分法に関って、成形、包装して以配を製造 した。

本品は、ビタミンCを動化した東里で、遊化が抑制される特よく、口当り、展 は良好ならびだんご風和菓子である。

发酵剂 B-3 测分针味料

はらみつ100重要部、異性化粧50素量器、基金糖2重量部及び実施例4-3の方 まで考た資料版2-0-4 3-グルコシルーL-アスコルビン酸粉米1重量配を組 合して複合可模料を提供。

本品は、ビタミンCを強化した甘味料で、後度食品として好道である。

美元併 リーイ チョコレート

カカキベースト40家長額、カカオバター11監査部、鉱水結晶マルテトール50 製量等及び実践例A-1の方法で得たボーグリコシルーレーアスコルビン機会有約 米1窓景部を混合してノファイナーに適して施理をでけた後、コンチェに入れて 50でで二級産業り上げる。この間にレシチン0.5重量部を活地して充分に分量さ せた。次いで延度製業器で81で収算し、パターの固まる更割に単に施し込み、製造機でアリ抜きを行った施、10での冷計トンネルを20分間で通過させて関 化させた。これを製験をして物質と異点を19人。

本品は、脊髄性がなく、色、光を共に違く、内部組織も良好であり、口中でなめられに施り、上部な対称によろやかな選集を作する。また、本品は、ビタミンCを数化したチェコレートであって、個カロリー、値関数性である。 女教書 8-5 センドクリーム

抽品性 αーマルトース(林朝株式会社製品、登券商級ファイントース)1.20 0差調構、ショートニング1,000面最前、実践的A-4の方法で得た α・グリコン ルーLーアスコルビン政会有資本10面産機、レシチン1重最報、レモンオイル1重 量等、パニラオイル1面重都を含体により進行してサンドクリームを製造した。

本品は、ピタミンC製化したサンドクリームで、口口り、旅け風分、風味たも 茂好である。

宝海州 8-5 股別

・ 実施例A - 3の方法で得た高値度2 - 0 - ェ - 9 - ジルコシル・レーアスコルビン 東野末10軍員部に結晶サタ・マルトース13東監督、コーンスターティを会称、ル デン1選集前及びリボフラビン0.5軍豊都を共一に配合した後、常生に従って打 はして、一般150mgの条用を観察した。

- 本品は、ビタミンC、ビタミンF、ビタミンFiの複合ビタミン剤で、安定性もよく、飲み品い錠剤である。

実統例 3-7 カプセル共

静機カルシウム・・水塩10重量的、L-乳酸マグネシウム・三水塩50重量部、 マルトース67重量的、実施利1 3の方法で得たェーグリコシルーレーアスコルビン融合有額末加重産券及びエイコサベンタエン費2016省省ャーシクロデヒストリン色誌化台物12重異報を均一に融合し、紙粒成形機にかけて朝忙とした後、常 なに従って、 ゼラチンカプセルに対人して、一カプセル 150mg人のカプセル剤を 製造した。

本名は、血中コレステロール低下剤、免疫は活剤、英肌剤などとして、感受 佐族集の予防剤、治療剤、健康構造用支品などとして有利に利用できる。 実施剤 E-8 対益

難酸ナ・リウム・三水堆1重量率。BL-乳酸カルシウム4重量線をグリセリン 10重量等と対一に融合し、この総合物を、ワセリン50重量源、末ロウ10重量数 - ラノリン10重量制、ゴマ酸は1.5重量率、実施例4-4の方性で停た4ーグリコ シルーL-アスコルビン設合4型は1.1重量制及びハッカ制6.5速量等の総合物に加 えて、更に対一に批和して軟管を製造した。

本品は、日徳は止め、美肌剤、色白剤などとして、更には外部、火傷の治療 促進剤などとして有利に利用できる。

#### 突旋例 8-9 比射剂

実験2(2)の月底で得た育業度のコーダルコシルーし、アスコルピン酸粉末を水に溶解、中和し、常法に従って、看製薬品してパイロゲンプリーとし、この密度を20mL等アンプルにカー8ーダルコシルーし-アスコルピン最503mgになるように分作し、これを対入して必耐利を製造した。

本花は預は、単体で、または、他のビタミン、ミネラルなどと張合して訪内 内又は静狭内に投与できる。また、本品は、低温貯蔵の必要もなく、変定な整 類である。

本品は、L アスコルビン酸の場合と比較して、株内指揮等側が約3万至10倍 に延長され、緑々に加水分解を受け、L-アスコルビン酸を放出し、1 アスコルビン酸本来の出産効果を発揮する。

また、本品は、ビタミンCの調整としてだけでなく、加水分解され水酸化剤と して新分散素の砂法、温酸化調質の乳球乳制などの効果を発揮し、ウイルス生 次集、刺客性突患、外傷性突患、免疫疾患、アレルギー疾患、糖尿病、白内腺 、簡素器変素、漏性腫瘍などの名種疾患の予防剤、治療剤に有剤に利用できる

#### **海海的 B-10 左射期**

並化ナトリウェ9素最高、現化カリウムG. A素温が、塩化カルンウムG. Z宝量頭

シスチレンソルビトールL飲金額、類前型モノステアリン電グリセリンL質量お、ビルビン酸3.5%最終、ベヘニルアルコールC.5%通過、アポガド所1%減額、実施例1-3の方法で限た系数度2-0-a-B-グルコシル-L-アスコルビンを砂率1度最初、ビクミンE及び助案所の減量を、支佐に従って加熱的所し、これにし、13mプチンングナニール5億量間、カルポキシビニルスラマー0.1変量等及び作業外85.3質異常を加え、ホモヴァイザーにかけま化し、支にそれの進量を加えて保険水条1.3質異なを減るした。

本品は、日頃け止め、美駅和、色白指などとして有利に利用できる。 実験制 3-14 クリーム

モノステアモン酸ポリポキシエアレングリコール2重点面、自己乳化型モノステアリン酸グリセリン5重量点、実施例A 80方法で得た高額度2-0-c-D-グルコシル・L-アスコルビン強制人2度量材、強動パラフィン1重量部、トリオクタン電グリセリル11度量型で2万元円の調査を、放放に関って加熱的減し、これに1-現底2度到間、1,3-ブチレングリコール5度量が良び結覧水 66更量的を加え、水でケナイザーにかけれたし、更に審新の過量を加えて操作数合しクリームを製造した。

本品は、お焼け止め、美味料、色白類などとして資利に利用できる。 [発明の世界]

本文で遊べたごとく、本名明の新型物質αーグリコシルーLーアスコルドン酸は、直動存死性を示さず、安定性に優れ、しかも、生体内で容易に加水な無され、Lー/スコルビン酸本来の刺激化性、生理的性を発揮する。その上、αーグリコシル・Lーアスコルビン機は、生体内で生成され、代謝される物質でもあることが利用したことより、その安全性も無めて高い物質である。

また、コーグリコシル・L-アスコルビン酸がL-アメコルビン酸とェーブル コシル酸化合質とを含有する洗菓に質転溶酵素を作用させる生化学的手味によ り容易に生成できることより、純液やに使れ、その工業的発展も収易である。

要に、この直接を元性を示さない。一クリコンルーLーアスコルビン酸は、安定性、生態器性も充分で、ビタミンの強化剤としてはかりでなく、安定剤、品質なは制、抗酸化剤、生理器性剤、常外種吸収剤などとして、飲料、加工食品、物質物などの飲食物、需要性質単の予防剤、治療剤、異には使肌剤、色白剤な

、乳味とトリウム8.1電量制、マルトース(4食業量像及び実施例4-8の方法で得た 高純度(1-0-a-D-ダルコシル-1-アスコルビン関格を12重量像を水1.8(3)電 資料に直接し、気法に従って、精製維持してパイロゲンフリーとし、この指摘 を維持したプラスチック資準に250mLずつ発達して作材相を製造した。

本品は、ビタミンCの制動としてだけでなく、カロリー植物、ミネラル引動相としても利用され、更には、加水分類され、抗酸化剤として延性直角の第金、通酸化脂質の生態抑制などの効果を発揮し、海中、四級の連絡侵差、同数保証、更には、ウイルス性疾患、細胞性原準、外傷性疾患、免疫疾患、アレルヤー交生、製尿病、自内解、循環深疾患、乳性腫瘍などの各種疾患の予防剤、治療剤に有利に利用できる。

#### 與施例 B-11 经背景资제

この配合物24gがつをうミネートアルミ製小笠に充張し、ヒートシールして縁着 乗換剤を複製した。

本経育以養剤は、一袋を約100万項目10mLの水に移解し、経管方法により点地 、胃、最などへの経口的又は連続口的栄養物給致として有利に収見できる。 決場約 B-L2 形元前

DL-乳機ナトリウム21を重ね、ビルビン酸ナトリウム1収を値、複数例と 1の 方法で移た σ ーグリコシル~Lーサスコルビン酸含者格末5変数等及びエテノー ル41を支部を、特製水24数乗却及び集色料、各名の適量と進合し、常用剤を製 ました。

本稿は、英様的、色白層として好適であり、入俗層の機に100万至10,000倍に そ初して利用すればよい。本品は、人務用の無の場合と同様に、鉄質用水、化 断水などに発収して利用することも名利に実施できる。

#### 表施例 B-13 乳液

ポリズキシエチレンペヘニルエーテル0.5家益部、テトラオンイン酸ポリオキ

ど化型品など各種無視物に含有せしめて有刺に利用できる。従って、本発明の a - グリコシルーレーアスコルビン数は広義な用途を有し、これら産業界に与える工業的製造は極めて大きい。

#### 4. 図面の詳細な最明

図は、本発明のターDーグルコシルーUーアスコルビン線の影外線吸収スペクトルBを示す。

特許出願人

株式会社林原生物化学研究所 代表者 # 妇 毋